

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

RECHERCHES SUR LE TRAITEMENT ET LA PRÉVENTION DU NAGANA

PAR MM. A. LAVERAN ET F. MESNIL

Depuis deux ans, nous poursuivons des recherches sur le Nagana, cette redoutable maladie de la mouche *tsétsé*, qui sévit dans toute l'Afrique centrale; nous avons étudié, au point de vue morphologique, le Trypanosome, *Tr. Brucei*, qui est l'agent pathogène de la maladie¹, et les formes cliniques, très variées, que revêt le Nagana chez les différentes espèces animales²; aujourd'hui, nous croyons devoir faire connaître les résultats de nos recherches sur le traitement du Nagana et sur l'immunisation des animaux contre cette maladie, bien que ces résultats soient peu satisfaisants.

Nous avons constaté quelques faits nouveaux qui nous semblent avoir de l'intérêt; nous espérons, d'autre part, que les nombreuses et laborieuses expériences que nous avons faites faciliteront les recherches des observateurs qui, après nous, reprendront l'étude de ces difficiles problèmes.

Après un court historique des recherches antérieures aux nôtres, sur le traitement et la prévention du Nagana et du Surra, nous exposerons :

I. Nos essais de traitement du Nagana avec des produits chimiques ou avec des sérums (sérum humain, sérum des animaux ayant acquis l'immunité pour le Nagana, etc.).

II. Nos essais d'immunisation.

Enfin, nous dirons quelques mots, en terminant, des mesures prophylactiques qui s'imposent contre le Nagana et le Surra.

1. *Société de biologie*, 23 mars 1901, et ces *Annales*, janvier 1902...

2. *Académie de médecine*, 3 juin 1902.

*
* *

Lingard, aux Indes, a expérimenté un grand nombre de produits chimiques pour le traitement du Surra du cheval; le sublimé, l'iode et l'iodure de potassium, le bichromate de potasse, l'iodoforme, la térébenthine, l'acide phénique, les alcaloïdes du quinquina, l'iodure double de potassium et de mercure, la liqueur de potasse ont été employés sans succès.

L'arsenic seul a donné quelques résultats favorables. 21 chevaux ont été soumis à ce moyen de traitement, un seul a guéri. Ce cheval était au 21^e jour de la maladie quand on a commencé le traitement; il a reçu 455 grains d'acide arsénieux en 63 jours et de l'iodure de sodium à la dose de 2 drachmes deux fois par jour pendant 62 jours¹. L'animal put reprendre son service, dans la police montée, au bout de 100 jours; il était en bonne santé 3 ans et 2 mois plus tard.

Lingard conseille de prescrire aux chevaux atteints de Surra l'acide arsénieux pendant 2 mois, à la dose de 12 grains par jour, et ensuite l'iodure double d'arsenic et de mercure pendant 6 mois.

L'iodure double d'arsenic et de mercure employé préventivement n'a pas donné de résultats favorables.

Lingard a employé, sans succès, pour le traitement du Surra : les injections de sérum obtenu en filtrant sur porcelaine un sang très riche en Trypanosomes et les injections sous-cutanées de sérum d'un Bovidé guéri du Surra et ayant acquis l'immunité pour cette maladie².

Bruce a expérimenté, au Zouloulouland, le traitement arsenical sur des chevaux et sur des ânes atteints de Nagana. Il s'est servi d'une solution d'arsénite de soude qui était administrée à l'intérieur; on donnait en moyenne aux chevaux et aux ânes 12 grains d'acide arsénieux par jour.

Aucun des animaux en traitement n'a guéri. Bruce a constaté seulement que les Trypanosomes disparaissaient temporairement du sang des animaux traités et qu'on observait une amélioration passagère dans leur état.

Des chevaux et un âne saturés d'arsenic ont contracté rapi-

1. Le drachme, = 3^{es},888, le grain = 0^{es},064.

2. LINGARD, *Report on Surra*... Vol. II, part. 1, Bombay, 1899, p. 61.

dement le Nagana quand on les a conduits dans des régions à tsétsé. Chez un chien, l'emploi préventif de l'arsenic a été également sans effet.

Bruce conclut de ses recherches que l'arsenic est tout à fait inutile comme prophylactique du Nagana, mais qu'il rend des services pour prolonger la vie des animaux après que la maladie a commencé¹.

E. R. Rost a préconisé l'emploi des injections de sérum de chèvre pour le traitement du Surra²; d'après cet observateur, les Trypanosomes du Surra meurent au bout de 1/2 minute à 2 minutes 1/2 dans le sang additionné de 1 0/0 de sérum de chèvre. Cette assertion n'a pas été vérifiée pour le Surra et, en ce qui concerne le Nagana, nous avons constaté que le sérum de chèvre n'avait pas d'action spéciale sur les Trypanosomes.

D'après le professeur R. Koch, on pourrait atténuer les Trypanosomes du Nagana par des passages d'une espèce animale à des espèces différentes et immuniser les animaux à l'aide de ces Trypanosomes à virulence atténuée³. Les faits sur lesquels se base R. Koch pour soutenir cette opinion peuvent être résumés comme il suit.

Les expériences ont été faites à Daressalâm (Est africain allemand); le virus a été fourni par un bœuf qui s'était infecté naturellement en traversant des régions à tsétsé.

Le 6 septembre 1897, on inocule avec le sang défibriné du bœuf, riche en Trypanosomes, les animaux suivants : 1 âne de Massaï, 1 vache, 2 veaux, 2 singes, 2 cobayes, 2 rats, 1 chien. L'âne de Massaï, les singes et les cobayes restent en bonne santé; on ne constate chez eux aucun signe d'infection. La vache meurt au bout de 39 jours, les veaux au bout de 41 et 49 jours, les rats au bout de 34 et 52 jours, le chien au bout de 49 jours.

Le 15 octobre 1897, le sang d'un des rats inoculés le 6 septembre est injecté à 2 rats et à un chien; un des rats est trouvé mort 6 jours après l'inoculation, avant l'apparition des Trypanosomes dans le sang; le deuxième rat montre des Trypanosomes 13 jours seulement après l'inoculation et ne meurt

1. D. BRUCE, *Rapports sur le Nagana*, 1895-1896.

2. E.-R. ROST, Rapport sur la possibilité de traiter le Surra par des injections d'un sérum antiparasitaire. *Journal of. Path. and Bacter.*, vol VII, p. 285, juin 1901.

3. R. KOCH, *Deutsch. Kolonialblatt*, n° 24, 1901.

qu'après 68 jours. Le chien meurt après 42 jours, son sang est utilisé pour le troisième passage.

Le 30 octobre, on inocule avec le sang du chien : 2 chiens, 2 bœufs, 4 ânes de Massaï, et 3 rats. Les chiens meurent au bout de 19 et de 26 jours, les rats au bout de 67, 73 et 80 jours ; les ânes ne s'infectent pas.

Tout l'intérêt de l'expérience se concentre, d'après Koch, sur la manière dont se comportent les bœufs. Les Trypanosomes apparaissent, dans le sang de ces animaux, au bout de 10 jours chez l'un et de 13 jours chez l'autre, mais ils disparaissent bientôt ; les bœufs ne présentent aucun signe de maladie, et ils survivent ; un de ces animaux a été perdu de vue après une année, l'autre vivait encore 3 ans $1/4$ après l'inoculation et, inoculé à plusieurs reprises avec du sang riche en Trypanosomes, il ne s'était pas réinfecté ; il possédait donc une immunité solide.

Koch conclut, un peu prématurément ce nous semble, de ces observations que la question des inoculations préventives du Nagana est résolue. Nous aurons l'occasion de revenir plus loin sur cette question et de montrer que l'atténuation des Trypanosomes du Nagana par le passage chez des animaux d'espèces différentes est légère, si même elle ne fait pas complètement défaut.

De la guérison des deux bœufs, on ne peut rien conclure ; il n'est pas rare, en effet, de voir le Nagana et le Surra des bœufs se terminer spontanément ainsi, et les animaux qui guérissent ont l'immunité comme l'avaient les bœufs de Koch.

Nous devons noter que les Trypanosomes utilisés par Koch pour ses expériences à Daressalam avaient un pouvoir virulent très différent de celui des Trypanosomes sur lesquels nous avons expérimenté¹. Alors que les rats inoculés par nous mouraient en 5 jours, les rats inoculés par Koch ont survécu 34, 52, 68, 67, 73 et 80 jours ; un chien est mort au bout de 42 jours, tandis que la durée moyenne de la maladie, chez nos chiens, n'a été que de 10 j. $1/2$. Les ânes, les singes, ainsi que 2 cobayes inoculés par Koch, ont résisté, tandis que tous les animaux de ces espèces que nous avons inoculés sont morts ; on

1. Ces Trypanosomes sont les mêmes que ceux qui ont servi aux recherches de MM. Kanthack, Durham et Blandford : ils proviennent du Zouloulund.

peut objecter que les ânes de Massaï et les singes sur lesquels Koch a expérimenté étaient plus résistants au Nagana que les animaux que nous avons eus à notre disposition à Paris; mais l'objection ne paraît valable ni pour les rats, ni surtout pour les cobayes. On est amené ainsi à se demander s'il n'y a pas plusieurs variétés de Nagana en Afrique.

D'après Schilling¹, les bœufs sont susceptibles d'acquérir l'immunité et, à la suite d'injections répétées de sang à Trypanosomes, le sérum de ces animaux acquiert des propriétés microbicides pour le Trypanosome du Nagana. L'auteur cite l'expérience suivante : à un taureau ayant eu une atteinte de Nagana et paraissant bien guéri, on injecte sous la peau 19 c. c. de sang défibriné d'un cheval ayant de nombreux Trypanosomes; le 9^e jour après l'injection, on trouve, chez le taureau, de rares Trypanosomes qui ont disparu le 12^e jour; on pratique une nouvelle injection de sang à Trypanosomes dans le péritoine; on constate alors que le sérum du taureau a une action spécifique *in vitro* sur les Trypanosomes du Nagana, qui s'immobilisent en 30 et même en 21 minutes, quand on mélange ce sérum à du sang à Trypanosomes.

L'expérience suivante de Schilling semble favorable, au premier abord, à l'hypothèse de l'atténuation des Trypanosomes par le passage entre espèces différentes.

Trois veaux sont inoculés avec l'exsudat péritonéal d'un chien nagané (troisième passage de chien à chien); les Trypanosomes apparaissent dans le sang des veaux, mais pour disparaître rapidement, au bout de 21, 12 et 15 jours. Les trois animaux sont envoyés dans une région à tsétsé; un d'eux meurt pendant le voyage, les deux autres se portaient bien encore au bout de deux mois.

Il est évident, pour tous ceux qui connaissent l'évolution du Nagana chez les Bovidés, que les 2 veaux n'ont pas été suivis assez longtemps pour qu'on puisse conclure.

Dans une lettre postérieure, Schilling déclare que les difficultés à vaincre pour combattre le Surra sont plus grandes qu'il ne le croyait².

Pendant la grave épizootie de Surra qui a régné en 1901 à

1. SCHILLING, *Centralbl. f. Bakter., Erste Abteil.*, 1902. Bd. XXXI, S. 432.

2. *Kolonial-Wirtschaftliches Komitee*, Berlin; séance du 2 juin 1902.

File Maurice, un grand nombre de médications ont été employées vainement pour combattre le Surra chez les Bovidés et chez les Équidés.

M. le Dr Alfred Lesur a employé sans succès : les injections hypodermiques et intra-veineuses de quinine, la liqueur de Fowler, le cacodylate de soude, l'arrhénal.

M. Deixonne, vétérinaire à Maurice, a eu recours sans succès à l'acide arsénieux, au cacodylate de soude, à l'arrhénal et aux injections intra-veineuses de sublimé aux doses conseillées par Baccelli dans la fièvre aphteuse¹.

Aux Philippines, où le Surra règne sur les Équidés, le bureau sanitaire conseille les injections intra-veineuses de liqueur de Fowler ; les parasites du sang se trouvent ainsi presque toujours détruits ; les animaux traités paraissent en bonne santé ; mais, jusqu'à présent, on n'obtient pas de guérison définitive².

I

TRAITEMENT

1^o Essais de traitement par différents produits chimiques.

ACIDE ARSÉNIEUX, ARSÉNITE DE SOUDE. — Il était indiqué d'employer les préparations arsenicales qui avaient donné à Lingard et à Bruce quelques résultats favorables dans le traitement du Surra ou du Nagana.

Nous avons expérimenté le traitement arsenical principalement chez le rat, chez la souris et chez le chien.

Nous employons la solution suivante pour le traitement des rats :

Acide arsénieux.....	1 gramme.
Carbonate de soude.....	1 —
Eau distillée.....	500 grammes.
Faire bouillir.	

Les seringues de 1 c. c. sont graduées d'ordinaire en 20 divisions, ce qui donne 0^{mgr},1 d'acide arsénieux par division.

Pour le traitement des souris, il est bon d'étendre cette solution à moitié ; pour le traitement des chiens, on fera usage au contraire d'une solution plus forte.

Au début, nous avons employé la solution arsenicale en

1. A. LAVERAN, *Académie de Médecine*, 28 octobre 1902.

2. SALMON et STILES, *Emergency Report on Surra*, U. S. Dep. of Agriculture, Bureau of anim. Industry, bulletin n° 42, 1902, p. 94.

injections intra-veineuses chez le chien, mais nous avons constaté que les injections sous-cutanées donnaient des résultats aussi favorables que les injections intra-veineuses et, dès lors, nous avons eu recours exclusivement à la méthode hypodermique qui est plus commode et qui est seule applicable chez les petits animaux.

Les injections arsenicales faites sous la peau du ventre des rats et des souris donnent lieu souvent à des abcès ; on évite cet inconvénient en pratiquant les injections dans les muscles de la cuisse. La peau est épilée au préalable et lavée au sublimé. L'injection est un peu douloureuse et provoque, chez les rats et les souris, un malaise évident, qui persiste parfois plusieurs heures.

L'action de l'acide arsénieux sur les Trypanosomes du Nagana est très remarquable, à condition qu'on emploie des doses suffisantes du médicament. Pour le rat et pour la souris, nous avons constaté qu'il fallait employer 0^mgr,1 d'acide arsénieux pour 20 grammes d'animal.

Soit un rat de 100 grammes infecté de Nagana et ayant de nombreux Trypanosomes dans le sang ; on lui injecte dans les muscles de la cuisse 0^mgr,5 d'acide arsénieux. 1 à 2 heures après l'injection, l'examen du sang ne révèle pas encore de résultat appréciable ; mais, au bout de 5 à 6 heures, on constate une diminution dans le nombre des parasites ; au bout de 24 heures, on ne trouve plus de Trypanosomes dans le sang, ou du moins ces parasites sont devenus extrêmement rares.

Lorsque les Trypanosomes sont très nombreux dans le sang, au moment où l'on commence le traitement, la disparition des parasites est moins rapide ; elle n'a lieu qu'en 36 ou 48 heures ; parfois même, une deuxième injection arsenicale est nécessaire. Malheureusement, cette disparition des Trypanosomes du sang n'est que temporaire ; au bout de 48 heures, de 3 ou 4 jours au plus, les parasites reparaissent ; d'abord en petit nombre, ils ne tardent pas à se multiplier si l'on n'intervient pas de nouveau. En pratiquant des injections arsenicales successives à 2 ou 3 jours d'intervalle, on arrive à prolonger beaucoup la vie des animaux ; *on ne les guérit jamais*. Il arrive un moment où le traitement arsenical n'est plus supporté : il se produit de la diarrhée, de l'amaigrissement, des névrites, des œdèmes aux points d'inoculation ;

les animaux meurent du Nagana si l'on interrompt le traitement, d'arsenicisme, si on ne l'interrompt pas.

Alors que les rats infectés de Nagana et non traités meurent au bout de 5 jours en moyenne, les rats traités par l'arsenic peuvent vivre deux mois ou deux mois et demi; les maxima de survie que nous avons observés ont été de 78 et 79 jours.

Dans l'expérience qui est résumée ci-dessous et qui a porté sur 6 rats, la durée moyenne de la maladie chez les 5 rats traités a été de 58 j. 1/2, alors que le rat témoin, non traité, est mort en moins de 5 jours.

Le 18 novembre 1901, 5 rats (blanc et noir) sont inoculés sous la peau avec du sang dilué de souris contenant de nombreux Trypanosomes.

Le 21 novembre (matin), les 6 rats ont des Trypan. assez nombreux dans le sang. L'un deux (*rat I*, poids 175 gr.) n'est pas traité; les Trypan. continuent à augmenter et il meurt dans la nuit du 22 au 23. *Durée de la maladie, moins de 5 jours.*

Les 5 autres reçoivent sous la peau, le 21 novembre, à 5 heures du soir, une dose calculée à raison de 0mgr.1 d'acide arsénieux par 20 grammes d'animal; ils reçoivent tous les 2 jours, pendant un mois, une dose semblable ou légèrement supérieure, puis la même dose ou une dose un peu inférieure, tous les 3 jours jusqu'à la mort. Les Trypan., absents du sang chez les cinq rats, dès le 22 novembre au matin, ne reparaissent (avec une exception) que dans la dernière semaine de décembre; mais, à partir de ce moment, ils sont rarement absents du sang, malgré les nouvelles injections arsenicales; ils vont en augmentant lentement et l'animal finit par succomber. A l'autopsie, la rate est hypertrophiée, mais pas plus que celle des rats non traités.

Le *rat II* (125 gr.) a de nouveau des Trypan. dans le sang le 30 décembre et meurt le 11 janvier, avec les symptômes convulsifs caractéristiques du Nagana des rats. *Durée de la maladie, 54 jours.*

Le *rat III* (190 gr.) a de nouveau des Trypan. dans le sang les 24 décembre, 9 et 17 janvier; ils sont absents dans les intervalles. Du 17 janvier jusqu'à la mort (5 février), les Trypan. sont toujours présents. *Durée de la maladie, 79 jours.*

Le *rat IV* (160 gr.) a de nouveau des Trypan. dans le sang le 24 décembre; ils restent présents dans le sang et vont en augmentant jusqu'à la mort (9 janvier). *Durée de la maladie, 51 jours.*

Le *rat V* (120 gr.) a de nouveau des Trypan. dans le sang le 24 décembre; ils restent presque constamment présents dans le sang, vont en augmentant à partir du 15 janvier jusqu'à la mort (23 janvier). *Durée de la maladie, 66 jours.*

Chez le *rat VI* (145 gr.), les Trypan. reparaissent dès le 29 novembre; mais ils sont de nouveau absents du 3 au 24 décembre, présents du 24 jusqu'à la mort (30 déc.). *Durée de la maladie, 42 jours.*

Chez les souris, le traitement arsenical donne les mêmes résultats que chez les rats; il est seulement d'un emploi plus difficile, les doses efficaces d'acide arsénieux étant encore plus voisines que pour le rat des doses toxiques. Chez des souris de 14 à 20 grammes, on peut injecter 0^{mgr},4 d'acide arsénieux.

Chez le chien, le traitement arsenical nous a donné de moins bons résultats que chez le rat; ce traitement prolonge la vie d'une manière évidente, mais dans une proportion bien moindre que chez les rats.

Nous avons injecté aux chiens de 2^{mgr}, 5 à 3^{mgr}, 5 d'acide arsénieux par kilogramme d'animal.

Les premières injections arsenicales font disparaître plus ou moins complètement les Trypanosomes du sang des animaux traités, mais les Trypanosomes reparaissent bientôt, et les animaux meurent, malgré des injections répétées; l'acide arsénieux perd son efficacité plus rapidement, semble-t-il, chez le chien que chez le rat.

Sur 9 chiens infectés de Nagana¹ et traités par l'acide arsénieux, la durée moyenne de la maladie a été de 25 jours 1/2; la durée maximum a été de 46 jours. Chez les chiens non traités, la durée de la maladie est de 6 à 16 jours (moyenne 10 j. 1/2.)

Dans des recherches en cours, nous avons constaté que l'acide arsénieux était également microbicide pour les Trypanosomes du Mal de caderas; il n'exerce aucune action sur les infections des rats dues au *Tr. Lewisi*.

Mode d'action de l'acide arsénieux sur les Trypanosomes du Nagana. — Lorsqu'on mélange *in vitro* du sang riche en Trypanosomes, étendu d'eau citratée, à la solution arsenicale, les Trypanosomes sont tués rapidement. Si, par exemple, à 15 gouttes de sang riche en Trypanosomes, on ajoute 1 goutte de la solution d'acide arsénieux à 2 pour 1000, on constate que les Trypanosomes sont immobilisés au bout de 15 à 20 minutes, parfois plus rapidement, tandis que, dans des préparations témoins (sang non additionné de solution arsenicale), la mobilité persiste.

L'acide arsénieux est donc toxique pour le Trypanosome du Nagana *in vitro*, mais on ne pouvait pas en conclure que, *in vivo*, l'action était la même; certaines substances très toxiques *in vitro*

1. Par un virus qui ne provenait pas d'un Ruminant.

pour le Trypanosome du Nagana, le formol par exemple, sont en effet sans action *in vivo*.

Pour étudier l'action *in vivo* de l'acide arsénieux sur le Trypanosome du Nagana, nous avons fait des prises successives de sang chez les rats naganés, après avoir pratiqué chez eux des injections arsenicales. Le sang était examiné à l'état frais et après coloration par le procédé ordinaire. Nous avons observé, à plusieurs reprises, des faits semblables à ceux relatés dans l'expérience qui suit.

Le 27 octobre 1904, à 9 heures du matin, on injecte sous la peau d'un rat ayant des Trypan. très nombreux dans le sang, 0 mgr, 6 d'acide arsénieux.

L'examen du sang frais fait 1 heure après l'injection montre des Trypan. encore très nombreux, bien mobiles. Pas de leucocytose marquée. Sur une préparation de sang colorée, on trouve quelques Trypan. déformés, en boules, au milieu de Trypan. d'aspect normal.

Examen du sang fait 2 heures après l'injection. Sang frais : Trypan. encore très nombreux, mouvements moins vifs qu'à 9 heures du matin. Pas de leucocytose marquée. Trypan. déformés non rares. Sang desséché et coloré : formes d'involution des Trypan. au milieu de Trypan. encore intacts, Trypan. en boules, Trypan. dont le protoplasme a disparu plus ou moins complètement, ou qui même sont réduits au flagelle.

Examen du sang fait 3 heures après l'injection. Le nombre des Trypan. a sensiblement diminué; mouvements ralentis. Formes d'involution des Trypan. Pas de leucocytose marquée.

Examen du sang fait 7 heures après l'injection. Trypan. peu nombreux. Formes d'involution. Beaucoup de Trypan. renferment de nombreuses granulations chromatiques.

28 octobre au matin. On ne trouve plus de Trypan.

On voit que chez ce rat nagané, traité par l'acide arsénieux, on trouvait, 2 heures après l'injection, des formes d'involution des Trypanosomes; au bout de 4 à 5 heures, la diminution du nombre des Trypanosomes était sensible; au bout de 24 heures, les Trypanosomes avaient disparu.

Les formes d'involution chez les rats traités par l'arsenic sont les mêmes que celles qu'on observe lorsque du sang riche en Trypanosomes est soumis à une température de 41° à 42° pendant quelque temps : les mouvements des Trypanosomes se ralentissent, les parasites se déforment et deviennent granuleux, ils prennent enfin une forme globuleuse très caractéristique; à une phase plus avancée de l'altération, le protoplasme disparaît,

ainsi que le noyau et l'on trouve, dans les préparations colorées, des flagelles isolés, auxquels adhèrent encore, assez souvent, les centrosomes.

Dans l'expérience relatée plus haut, on n'a pas noté de leucocytose; dans d'autres cas, une leucocytose légère est signalée.

Nous avons cherché vainement à voir des englobements de Trypanosomes mobiles par les leucocytes, mais nous avons vu souvent des leucocytes qui avaient englobé des restes des Trypanosomes; on distinguait parfois le noyau et le centrosome des Trypanosomes englobés.

Nous croyons pouvoir conclure que l'acide arsénieux est microbicide pour les Trypanosomes du Nagana¹ et que les leucocytes n'englobent que les Trypanosomes morts ou en voie avancée d'involution.

Nous avons cherché si la sensibilité des Trypanosomes pour l'arsenic diminuait, *in vitro*, chez les rats traités depuis quelque temps déjà par ce médicament. En mélangeant la solution arsenicale aux mêmes doses : 1^o à du sang de rat nagané traité depuis longtemps par l'arsenic; 2^o à du sang de rat nagané non traité, nous n'avons pas observé de différence notable; les Trypanosomes étaient détruits, dans les deux cas, aussi rapidement.

Pourquoi l'acide arsénieux, bien qu'il exerce une action microbicide manifeste sur les Trypanosomes du Nagana, ne guérit-il jamais les animaux naganés? Les Trypanosomes qui se trouvent dans le sang de la grande circulation sont détruits; mais, dans certains coins de l'organisme, ils échappent évidemment à l'action du médicament. Dès que la majeure partie de l'acide arsénieux a été éliminée ou fixée par les tissus, ces Trypanosomes passent de nouveau dans le sang et s'y multiplient rapidement.

On pouvait supposer que la rate servait de refuge aux Trypanosomes du Nagana comme aux Hématozoaires du Paludisme. L'expérience suivante prouve que le traitement arsenical ne donne pas de meilleurs résultats, chez les animaux dératés, que chez les autres.

1. L'action de l'acide arsénieux sur les Trypanosomes du Nagana, du Surra et du Mal de caderas est comparable à celle de la quinine sur l'Hématozoaire du Paludisme. Dans les deux cas, il y a action directe des médicaments sur les Protozoaires parasites.

La rate est enlevée à 3 rats (blanc et noir), le 21 novembre 1901. Le 28 novembre, ces rats, qui sont bien guéris et en bon état, sont inoculés avec du sang à Trypan. du Nagana.

RAT I (témoin). — Poids : 119 grammes. — 30 novembre, Trypan. assez nombreux; 1^{er} décembre, très nombreux. Trouvé mort, le 2 décembre au matin. *Durée de la maladie, moins de 4 jours.*

RAT II. — Poids : 120 grammes. — 30 novembre, Trypan. assez nombreux; 1^{er} décembre, très nombreux, injection 0mgr,6 acide arsénieux; 2 décembre, 0 Trypan. — Même dose d'acide arsénieux, tous les 2 jours, jusqu'au 14 décembre. Ce jour-là, Trypan. non rares: on donne 0mgr,7 d'acide arsénieux, ainsi que les 16 et 18 décembre, puis on revient à la dose de 0mgr,6 tous les 2 jours. — Trypan. très rares du 18 décembre au 2 janvier 1902. A partir du 3 janvier, Trypan. nombreux, puis très nombreux. Diarrhée, faiblesse générale, amaigrissement (poids : 109 gr.); on est obligé d'abaisser à 0,5 la dose d'acide arsénieux. — Trouvé mort le 8 janvier. *Durée de la maladie 41 jours.*

RAT III. — Poids : 103 grammes. — 30 novembre, Trypan. assez nombreux, 1^{er} décembre très nombreux, ars. 0mgr,5; 2 décembre, assez rares, ars. 0mgr,5; 3 décembre, 0 Trypan.; 4 décembre, 0 Trypan. ars. 0mgr,5; 6 décembre, poids : 112 grammes, Trypan. nombreux, ars. 0mgr,6. Dose de 0mgr,6, tous les 2 jours, jusqu'au 28 décembre; 31 décembre, un peu de diarrhée; ars. 0mgr,5, tous les 2 jours. Trouvé mort, le 13 au matin. *Durée de la maladie, 47 jours.*

CACODYLATE DE SOUDE. — Ce médicament est très peu actif *in vitro*; 30 gouttes de sang riche en Trypanosomes sont mélangées à 10 gouttes d'une solution de cacodylate de soude à 5 0/0; au bout de 3 heures, il y a encore des Trypanosomes mobiles. Les injections hypodermiques de cacodylate de soude faites chez des rats naganés n'ont eu aucune influence sur la marche de la maladie.

ARRHÉNAL. — Les expériences suivantes faites, la première sur des chiens, la deuxième sur des rats naganés, montrent que l'arrhéнал est sans action sur les Trypanosomes du Nagana; chez les animaux soumis à cette médication, la mort n'est même pas retardée, comme cela a lieu à la suite du traitement par l'acide arsénieux.

Trois chiens sont inoculés, le 3 juillet 1902, avec du sang de rat nagané. Le traitement est commencé le 6 juillet; le 1^{er} chien (poids : 12 kilogr.) reçoit journellement 20mgr. d'arrhéнал; le 2^e (poids : 8 kilogr.), 40mgr; le 3^e (poids : 7 kil. 500), 80mgr. L'évolution de la maladie est normale et les 3 chiens succombent respectivement 5 j. 1/2, 11 j. 1/2 et 5 j. 1/2 après l'inoculation de sang virulent.

Cinq rats sont inoculés le 28 juin 1902 sous la peau avec du virus. Le

traitement est commencé le 1^{er} juillet; le 1^{er} rat (87 gr.) reçoit journellement 1^{mg}r. d'arrhénal, le 2^e (94 gr.), 2^{mg}r, le 3^e (64 gr.), 4^{mg}r., le 4^e (92 gr.), 8^{mg}r. Les Trypan. continuent à augmenter dans le sang, et les rats meurent respectivement 4 j. 1/2, 6 j., 4 j. 1/2 et 6 j. 1/2 après l'inoculation du virus. Le 5^e rat qui sert de témoin meurt en 4 j. 1/2.

Pendant l'épizootie de Surra de l'île Maurice, l'arrhénal a été employé également sans succès pour le traitement des Bovidés et des Equidés.

SUBLIMÉ. — Actif *in vitro* sur les Trypanosomes, le sublimé, employé en injections hypodermiques, pour le traitement des animaux naganés, n'a pas donné de résultats favorables; on atteint les doses toxiques pour les animaux naganés, avant que l'action se fasse sentir sur les Trypanosomes.

IODURE DOUBLE D'ARSENIC ET DE MERCURE. — Actif *in vitro*, ce médicament ne nous a pas donné de résultats favorables pour le traitement des animaux naganés.

EAU IODÉE. — S'est montrée très peu active, même *in vitro*, probablement parce que l'iode est fixé très rapidement par l'albumine du sang.

IODURE DE POTASSIUM. — Sans action apparente *in vitro* sur les Trypanosomes; sans action sur le cours de la maladie chez les animaux naganés.

SELS D'ARGENT. — Nous avons employé le lactate d'argent, le fluorure d'argent ou tachiol et le caséinate d'argent ou argonine. Les sels d'argent, actifs *in vitro* sur les Trypanosomes, n'ont montré aucune efficacité dans le traitement du Nagana; ils ont, en outre, le grave inconvénient, lorsqu'on les emploie par la méthode hypodermique, de provoquer des douleurs extrêmement vives, des œdèmes et des phlegmons.

L'expérience suivante montre que le fluorure d'argent, très vanté comme microbicide par des auteurs italiens¹, est sans efficacité dans le traitement du Nagana.

Trois rats sont inoculés, le 2 juillet 1902, sous la peau avec du sang de rat nagané; le 4, les Trypan. sont rares dans le sang. Le 1^{er} rat reçoit 1^{mg}r. de fluorure sous la peau, le 2^e, 2^{mg}r., le 3^e, 4^{mg}r. L'injection est très douloureuse. Le lendemain, les 3 rats ont des Trypan. nombreux dans le sang; il s'est développé un phlegmon au point d'inoculation du sel d'argent. Le 6 au matin, les 3 rats sont trouvés morts.

1. *The Lancet*, 8 février 1902, p. 393

QUININE. — Les sels de quinine sont très peu actifs, *in vitro*, sur les Trypanosomes du Nagana; employés sous forme d'injections hypodermiques, chez des animaux naganés, ils ne nous ont paru avoir aucune influence sur l'évolution de la maladie,

ALDÉHYDE FORMIQUE. — Le formol, même en solution très diluée, tue rapidement *in vitro* les Trypanosomes du Nagana; injecté sous la peau ou dans les veines, il se montre inactif, apparemment parce que l'aldéhyde formique est fixée trop rapidement.

BLEU DE TOLUIDINE. — Lorsqu'on mélange une goutte de sang riche en Trypanosomes à une goutte de solution de bleu de toluidine à 1 0/0, on constate que les mouvements des Trypanosomes se ralentissent rapidement; au bout de 4 à 5 minutes, les Trypanosomes sont en général immobiles et ils se colorent en bleu. L'action est moins rapide si l'on ajoute au sang une proportion moindre de bleu. L'expérience prouve que la virulence des Trypanosomes qui ont subi pendant un laps de temps convenable l'action du bleu de toluidine est atténuée dans une certaine mesure. Nous y reviendrons plus loin.

BLEU DE MÉTHYLÈNE. — Il exerce sur les Trypanosomes du Nagana une action analogue à celle du bleu de toluidine, mais moins rapide.

Les essais de traitement du Nagana par le bleu de toluidine ou par le bleu de méthylène, en injections intra-veineuses ou sous-cutanées, ne nous ont donné aucun résultat favorable.

Parmi les médicaments que nous avons expérimentés, sans succès, dans le Nagana, nous citerons encore : l'acide phénique, l'acide salicylique, le chinol, l'essence d'ail, la solution de chlorure de chaux, le chloral.

2° Essais de sérothérapie.

Nos recherches ont porté sur l'action des sérums normaux et du sérum provenant d'animaux ayant acquis l'immunité contre le Nagana. Parmi les sérums normaux, le sérum humain a seul montré des propriétés microbicides pour *Tr. Brucei*.

SÉRUM HUMAIN. — Injecté à dose suffisante aux animaux naganés, le sérum humain exerce sur la marche de la maladie une action manifeste¹ : les Trypanosomes disparaissent du sang

1. A. A. LAVERAN, *Acad. des Sciences*, 1^{er} avril 1902.

au moins d'une façon temporaire, l'évolution de la maladie est retardée, parfois même, on obtient des guérisons complètes.

Le sérum fourni par les adultes est beaucoup plus actif que le sérum des nouveau-nés¹.

Le sérum humain conserve longtemps son activité quand il a été recueilli avec pureté; le sérum impur, dans lequel se développent des champignons ou des bactéries, devient rapidement inactif.

La sérosité pleurale est moins active que le sérum du sang de la saignée; la sérosité de l'ascite est encore moins active que la sérosité pleurale.

Nos expériences sur le traitement du Nagana par le sérum humain ont porté presque exclusivement sur des rats et sur des souris; il n'est pas facile, en effet, de se procurer du sérum humain à une époque où la saignée est tombée dans le discrédit, et nous devions ménager les petites quantités de sérum que nous réussissions à nous procurer²; quelques expériences ont été faites, cependant, sur des chiens.

Chez les souris de 10 à 20 gr., la dose de sérum humain employée a été en général de 1/2 à 1 c. c.; chez les rats de 50 à 100 gr., elle a été de 1 à 2 c. c.

Si, à une souris de 20 gr. environ, ayant des Trypanosomes du Nagana dans le sang, on injecte 1/2 à 1 c. c. de sérum humain, on constate, au bout de 24 à 36 heures, que les Trypanosomes ont disparu du sang. Il en est de même si, chez un rat nagané de 100 grammes environ, on injecte 1 à 2 c. c. de sérum humain.

La disparition des Trypanosomes est moins rapide quand les parasites sont très nombreux au moment où l'injection est pratiquée; il faut tenir compte aussi de la différence d'activité des sérums. Nous avons eu des sérums qui, à la dose de 1/4 et même 1/10 de c. c., faisaient disparaître les Trypanosomes du sang de souris de 15 grammes.

Il arrive quelquefois que les Trypanosomes ne reparaissent

1. Ce fait est évidemment à rapprocher de ceux signalés récemment par Halban et Landsteiner (*Munch. med. Woch.*, 1902, n° 12) qui ont montré que le sérum maternel est plus hémolytique, plus bactéricide, etc., que le sérum fœtal.

2. Nous remercions MM. les Drs Lesage et Weinberg ainsi que M^{lle} Roze, sage-femme en chef à la clinique Baudelocque, qui, avec une grande obligeance, nous ont fourni du sérum humain pour ces expériences.

pas, mais ce sont là des exceptions. Bien que nous ayons traité par le sérum humain un grand nombre de souris et de rats naganés, nous n'avons noté que quatre cas de guérison chez des souris, après une ou deux injections. Voici le résumé de ces quatre observations :

1^o Une souris grise, du poids de 11 gr., est inoculée le 22 mars 1902, dans le péritoine, avec du sang d'un animal nagané. Le 23 mars, les Trypan. sont assez nombreux dans le sang. On injecte un demi centimètre cube de sérum humain. Le 26 mars, les Trypan. ont disparu et ils ne reparaissent pas. Le 19 avril (au bout de 23 jours), la souris, considérée comme guérie, est inoculée à nouveau avec du sang à Trypan., dans le but de constater si elle a acquis l'immunité. Le 22 avril, les Trypan. reparaissent dans le sang ; la souris est soumise de nouveau au traitement par le sérum humain, qui ne produit plus que des disparitions temporaires des Trypan. La souris meurt le 13 août.

2^o Une souris ayant des Trypan. assez nombreux reçoit un quart de centimètre cube de sérum humain ; les Trypan. disparaissent du sang pendant 6 jours ; une deuxième injection de 1 c. c. de sérum fait disparaître d'une façon définitive les Trypan.. Au bout de 30 jours, la souris, considérée comme guérie, est inoculée à nouveau avec le sang d'un animal nagané, et cette inoculation est suivie d'une nouvelle infection.

3^o Une souris ayant des Trypan. non rares reçoit un demi centimètre cube de sérum humain ; les Trypan. disparaissent et ne reparaissent pas.

4^o Une souris ayant des Trypan. assez nombreux dans le sang reçoit un demi-centimètre cube de sérum humain ; les Trypan. disparaissent pendant 7 jours ; une deuxième injection de 1 c. c. fait disparaître les Trypan. et, cette fois, d'une manière définitive.

En règle générale, le sérum humain ne fait disparaître que d'une façon temporaire les Trypanosomes ; après un laps de temps assez variable, les parasites reparaissent, ce qui nécessite des interventions successives.

Chez les souris et les rats naganés, à la suite d'une injection de sérum humain, les Trypanosomes disparaissent souvent pendant 4 à 8 jours ; chez quelques-unes de nos souris traitées par le sérum humain, les Trypanosomes ont disparu du sang pendant 12 et même 18 et 19 jours.

Lorsque les Trypanosomes ont reparu dans le sang d'un animal traité, ils pullulent de nouveau rapidement, comme chez des animaux non traités, et la mort arriverait bientôt, si l'on n'intervenait pas de nouveau.

On peut pratiquer ainsi, chez un animal nagané, une série d'injections de sérum humain et prolonger de beaucoup son

existence; il est à noter que, dans les cas où la guérison a été obtenue, c'est à la suite d'une seule injection ou de deux injections : jamais les animaux traités pendant longtemps n'ont guéri.

On pouvait prévoir que le sérum humain injecté à plusieurs reprises à un animal nagané perdrait de son activité sur les Trypanosomes; il en est bien ainsi, mais la diminution d'activité ne se produit qu'à la longue, si bien qu'on peut traiter un animal avec succès pendant deux et trois mois.

En général, chez les animaux traités par le sérum humain, nous avons attendu que les Trypanosomes reparaissent dans le sang pour pratiquer une nouvelle injection; dans quelques cas, nous avons fait des injections tous les 2 ou 3 jours sans attendre que les Trypanosomes reparaissent. Les résultats définitifs n'ont pas été meilleurs.

Les injections de sérum humain sont très bien supportées; nous avons injecté jusqu'à 2 c. c. de sérum à une souris de 15 grammes, sans produire d'accidents.

Les injections étaient faites, chez les rats et les souris, sous la peau ou dans les muscles des cuisses, avec les précautions antiseptiques ordinaires.

Lorsqu'on a à sa disposition du sérum humain de bonne qualité, on peut facilement prolonger la vie des souris et des rats naganés pendant deux mois, alors que les animaux témoins, non traités, meurent en 4 à 5 jours. Dans quelques cas, les animaux traités ont survécu pendant trois mois.

En alternant l'emploi de l'acide arsénieux et celui du sérum humain, nous avons obtenu des résultats encore plus favorables : un rat a survécu 127 jours, une souris 103 jours, mais nous n'avons pas obtenu de guérisons avec l'emploi alternatif ou même simultanée des deux médications.

Dans des recherches en cours, nous avons constaté que le sérum humain était aussi actif dans le Mal de caderas que dans le Nagana; il ne nous a pas paru microbicide pour le Trypanosome vulgaire des rats, *Tr. Lewisi*.

Mode d'action du sérum humain — Il est difficile d'étudier *in vitro* l'action du sérum humain sur les Trypanosomes du Nagana, parce que les mouvements de ces Trypanosomes se ralentissent assez rapidement. Lorsqu'on mélange du sang riche en Trypanosomes, par parties égales, à du sérum humain, on

constate, au bout de 1/2 heure ou 1 heure, que les mouvements des Trypanosomes sont ralentis et, en général, au bout de 2 à 3 heures, que les Trypanosomes sont immobiles; mais les choses se passent à peu près de même dans le sang qui n'a pas été mélangé à du sérum humain. L'action du sérum humain sur les Trypanosomes n'est pas assez rapide pour être étudiée, comme celle de l'acide arsénieux, *in vitro*.

Le sérum humain n'agglutine pas les Trypanosomes du Nagana, alors que les sérums de cobaye, de chèvre et surtout de porc, qui n'ont aucune propriété curative, donnent lieu à de belles agglutinations. On voit ici, une fois de plus, que le pouvoir agglutinant est indépendant du pouvoir microbicide.

En examinant avec soin le sang des animaux traités par le sérum humain, on peut se rendre compte du mode d'action du sérum. L'examen doit être fait, à plusieurs reprises, dans les 24 heures qui suivent l'injection de sérum, chez un animal ayant de nombreux Trypanosomes dans le sang.

Pendant les premières heures après l'injection, les Trypanosomes gardent leur aspect normal; au bout de 4 à 5 heures, on constate dans le sang frais et, mieux encore, sur les préparations de sang fixé et coloré, que beaucoup de Trypanosomes sont déformés, en têtards ou en boules; le corps des Trypanosomes tend à devenir sphérique. A une phase plus avancée, le protoplasme et le noyau des Trypanosomes en voie d'involution disparaissent. Les altérations que subissent les Trypanosomes sont, comme on voit, les mêmes que celles qu'on observe chez les animaux naganés, traités par l'acide arsénieux.

Il n'y a pas de leucocytose marquée; on trouve des leucocytes qui contiennent des restes reconnaissables (par exemple noyau et centrosome) des Trypanosomes, mais la phagocytose ne paraît s'exercer que sur les Trypanosomes morts ou en voie d'involution avancée.

Le sérum humain a donc, sur les Trypanosomes du Nagana, une action microbicide analogue à celle de l'acide arsénieux.

Le sérum humain, chauffé pendant 1 heure à 56°, conserve environ la moitié de son activité; il suffit d'augmenter un peu les doses pour obtenir encore de bons résultats. Une souris traitée uniquement avec du sérum chauffé à 56° a vécu 43 jours.

Le sérum humain, chauffé à 62°, perd la plus grande partie de son activité.

Il ne paraît pas douteux qu'il existe une étroite relation entre l'immunité de l'homme pour le Nagana et l'action microbicide du sérum humain sur *Tr. Brucei*; le principe actif du sérum émane vraisemblablement des leucocytes. On s'explique ainsi que le sérum soit plus efficace que la sérosité pleurale et que la sérosité de l'ascite, très pauvre en leucocytes, soit à peu près inactive. Dans une expérience, le plasma humain citraté s'est montré très peu actif, en comparaison du sérum; mais on conçoit que le plasma humain puisse contenir assez de principes actifs pour protéger l'organisme contre l'invasion des Trypanosomes, sans qu'il ait une activité suffisante pour être curatif quand il est injecté aux animaux et dilué dans une masse relativement grande de plasma inactif.

Peut-être, aussi, la substance microbicide du sérum humain est-elle, dans le sang de l'homme, uniquement renfermée dans les leucocytes, les rendant ainsi capables de détruire les Trypanosomes du Nagana.

Il était intéressant de savoir si des injections répétées de sérum humain, faites chez un animal nagané, ne donnaient pas lieu à la formation d'un anticorps qui neutralisait à la longue le principe actif du sérum. L'expérience suivante ne confirme pas cette hypothèse.

Un rat de 209 grammes, inoculé de Trypan, le 6 mai, reçoit, du 8 au 22 mai, 7 inoculations, chacune de 2 c. c. de sérum humain. Les dernières inoculations ne faisant plus disparaître les Trypan, du sang, le rat est saigné. Son sérum, employé aux doses respectives de 1/2 et de 1 c. c. en mélange avec 1/2 c. c. de sérum humain, chez des souris de 15 grammes environ, n'empêche nullement l'action du sérum humain. La disparition des Trypan, du sang a lieu dans les mêmes conditions que chez les souris qui reçoivent le sérum humain non mélangé de sérum de rat.

SÉRUM NORMAL D'ORIGINE ANIMALE. — Le sérum d'aucun animal ne possède une activité comparable à celle du sérum humain sur les Trypanosomes du Nagana. Les sérums suivants, injectés à des rats ou à des souris naganés, ne nous ont donné que des résultats négatifs : sérum de poule ou d'oie, sérum de cheval, de mouton, de chèvre, de porc.

Le singe étant, dans l'échelle des êtres, l'animal le plus voisin de l'homme, il était intéressant de comparer l'action du

sérum de singe sur les Trypanosomes du Nagana à celle du sérum humain; le sérum d'un Cercopithèque s'est montré tout à fait inactif, ce qui est d'accord avec la grande réceptivité des singes de ce groupe pour le Nagana; nous regrettons de n'avoir pas pu poursuivre cette expérience sur des singes appartenant au groupe des Anthroïdes.

SÉRUM D'ANIMAUX RÉFRACTAIRES AU NAGANA, AYANT REÇU DES INJECTIONS RÉPÉTÉES DE SANG RICHE EN *Tr. Brucei*. — Nous avons injecté à plusieurs reprises à des oiseaux (oie, poule) du sang riche en Trypanosomes; le pouvoir curatif du sang des oiseaux ainsi traités s'est toujours montré nul.

SÉRUM D'ANIMAUX AYANT ACQUIS L'IMMUNITÉ POUR LE NAGANA. — Le Nagana, qui est toujours mortel pour un grand nombre de Mammifères, est moins sévère pour quelques espèces; la chèvre, le mouton et les Bovidés donnent une assez forte proportion de guérisons, et les animaux guéris possèdent l'immunité pour le Nagana.

Nous avons vu guérir ainsi, à l'Institut Pasteur, une chèvre et un mouton. La chèvre a guéri au bout de 5 mois, le mouton au bout de 6 mois 1/2.

Après nous être assurés que ces animaux étaient bien guéris et qu'ils possédaient l'immunité pour le Nagana, nous avons recherché si leur sérum avait des propriétés curatives. Ces sérums ne se sont montrés actifs qu'en mélange avec le sang contenant des Trypanosomes du Nagana¹; injectés chez des animaux naganés, ils n'ont jamais enrayé l'évolution de la maladie; leur action a même été nulle lorsqu'on les injectait en même temps que le sang virulent, mais sur un autre point du corps.

Nous avons cherché à renforcer l'immunité de la chèvre et du mouton en injectant à ces animaux des doses massives de sang à Trypanosomes; les résultats ont été nuls. L'observation d'une chèvre guérie du Nagana, à laquelle nous avons injecté à 16 reprises du sang à Trypanosomes, nous paraît mériter d'être résumée ici².

1. Encore faut-il faire remarquer que cette faible activité disparaît généralement au bout de quelques jours dans les sérums conservés à la glacière, contrairement à ce qui a lieu pour le sérum humain.

2. Pour les détails de la maladie de la chèvre, voir *Bulletin Acad. de médecine*, 3 juin 1902, p. 671.

Chèvre pesant 24kg,500, inoculée le 25 octobre 1901 avec du sang de souris naganée. Elle contracte une infection très bénigne, qui ne se manifeste que par de l'hyperthermie (poussées fébriles au delà de 41°), de l'amaigrissement (le poids tombe à 20 kilogrammes) et la présence de Trypanosomes dans le sang. Ces parasites sont toujours extrêmement rares; on ne peut les déceler à l'examen microscopique, en très petit nombre, que les 28 et 29 octobre. Ulérieurement, il est nécessaire, pour démontrer leur présence, d'inoculer du sang de la chèvre à un rat ou à une souris; en novembre et décembre, 2 ou 3 gouttes de sang suffisent; le 31 janvier et le 6 février 1902, 1 c. c. de sang n'est plus virulent; les animaux inoculés les 24 février et 10 mars respectivement avec 3/4 et 2 c. c. de sang contractent une infection à Trypan. A partir du 1^{er} avril, aucune des injections de sang de la chèvre n'a amené d'infection à Trypan., malgré les doses employées (jusqu'à 3 c. c.) et bien que la chèvre reçoive de nombreuses et abondantes réinoculations de sang riche en Trypan. Sa guérison et son immunité pour le Nagana sont donc bien établies. Voici la liste des réinoculations subies par la chèvre, toutes sous la peau : 1 (23 avril), 1 c. c. sang dilué souris naganée; — la 2^e et les suivantes, sang de chien nagané; 2 (8 mai), 10 c. c., — 3 (21 mai), 15 c. c., — 4 (23 mai), 10 c. c., — 5 (26 mai), 10 c. c., — 6 (30 mai), 15 c. c., — 7 (6 juin), 50 c. c., — 8 (13 juin), 60 c. c., — 9 (24 juin), 20 c. c., — 10 (30 juin), 50 c. c., — 11 (8 juillet), 50 c. c., — 12 (5 août), 50 c. c., — 13 (6 septembre), 40 c. c., — 14 (16 septembre), 40 c. c., — 15 (26 septembre), 35 c. c., — 16 (4 octobre), 50 c. c.

On remarquera qu'en juillet et août, les inoculations ont été très espacées; la chèvre a eu, en effet, durant cette période, des abcès très volumineux, qui ont été assez longs à se cicatriser.

BILE DES ANIMAUX MORTS DU NAGANA. — Dans un rapport présenté dernièrement au conseil du gouvernement de l'île Maurice et dont nous avons connaissance par le *Cernéen*, journal de l'île Maurice, Edington conseille l'emploi, à titre préventif et à titre curatif, de la bile d'animaux morts du Surra additionnée du tiers de son poids de glycérine. Cette bile, injectée dans la veine de mules et de chiens malades (à la dose de 20 c. c. pour les mules, de 10 pour les chiens), ferait disparaître en quelques heures les Trypanosomes du sang. D'autre part, Edington est convaincu que l'injection sous-cutanée assure l'immunité pendant un certain temps.

Nous avons expérimenté avec la bile d'un chien qui venait de succomber au Nagana. Cette bile glycinée, injectée à la dose de 7 c. c. dans la veine d'un petit chien nagané pesant 6 kilogrammes, n'a pas fait disparaître les Trypanosomes. Employée à titre préventif ou curatif chez des souris de 15 grammes, elle

n'a modifié en rien la marche et la durée de l'infection : certaines de ces souris recevaient des doses variant de 0 c. c. 10 à 0 c. c. 50, 24 heures avant l'inoculation du virus ; d'autres recevaient 0 c. c. 10 ou 0 c. c. 15 de bile glycinée, en même temps que le virus était inoculé en un autre point du corps ; enfin, une souris a reçu 0 c. c. 15 alors que les Tryp. étaient peu nombreux dans son sang.

II

PRÉVENTION

Pour protéger des animaux contre une maladie microbienne, on peut employer des sérums immunisants, ou bien inoculer aux animaux des microbes affaiblis, des virus atténués, de manière à produire des atteintes de la maladie qui, quoique légères, confèrent l'immunité ; nous avons essayé de ces deux méthodes pour immuniser des animaux contre le Nagana.

1° *Recherche d'un sérum immunisant.* — Le sérum humain a, pour le Nagana, un pouvoir préventif très faible.

Si à une souris on inocule 1/10 de c. c. de sang à Trypanosomes mélangé à 4/10 de c. c. de sérum humain, ou à une dose plus forte, l'animal ne s'infecte pas ; il en est parfois de même lorsque le sang et le sérum sont injectés simultanément sur deux points différents du corps ; mais, ici, le résultat n'est pas constant : il arrive que l'infection se produit avec un retard.

Si on inocule à un rat 1 c. c. de sérum humain et, 24 heures après, du sang à Trypanosomes, l'animal s'infecte, mais la période d'incubation est prolongée ; c'est seulement au bout de 5 à 9 jours que les Trypanosomes apparaissent dans le sang du rat. Lorsqu'on pratique des inoculations de Nagana avec du sang pris chez un animal qui a reçu récemment une injection de sérum humain, on constate de même que la période d'incubation se trouve allongée ; une fois que les Trypanosomes se sont montrés dans le sang, la maladie évolue comme à l'ordinaire.

Le Nagana s'est développé chez des souris inoculées avec des Trypanosomes qui avaient été imprégnés de sérum humain, puis lavés ; il y a eu seulement un retard plus ou moins marqué dans l'apparition des Trypanosomes.

Les souris inoculées avec un mélange de sang à Trypano-

somes et de sérum humain chez lesquelles l'infection ne se produit pas, n'acquièrent aucune immunité pour le Nagana.

Les sérums de chien, de mouton, de chèvre, de cheval, de poule, d'oie, mélangés au sang à Trypanosomes, n'empêchent pas l'infection de se produire chez les animaux auxquels on injecte le mélange, et la durée de l'incubation n'est pas allongée; les propriétés du sérum humain sont donc bien spéciales à ce sérum.

On pouvait espérer que le sérum des animaux guéris du Nagana et ayant acquis l'immunité pour cette maladie aurait des propriétés immunisantes supérieures à celles du sérum humain; ici encore, nos espérances ont été déçues, comme le montrent les observations qui suivent.

Le sérum d'un bouc infecté de Nagana depuis 47 jours et encore en cours d'infection a montré une faible activité préventive: deux souris inoculées avec 1/10 de c. c. de sang à Trypanosomes et 1 ou 2 c. c. du sérum (en mélange) ont survécu. Le sérum de ce bouc ne s'est montré actif qu'en mélange.

Le sérum de la chèvre guérie du Nagana, ayant l'immunité pour cette maladie, et à laquelle des injections successives de sang riche en Trypanosomes ont été faites (voir l'observation ci-dessus), n'a montré qu'une très faible activité préventive. La chèvre a été réinoculée tous les 8 jours environ avec 30 à 40 c. c. de sang de chien.

Ce sérum de chèvre immunisée, mélangé *in vitro* à du sang à Trypanosomes, n'exerce pas d'action microbicide nette. Dans le mélange, laissé 1 ou 2 heures à la température du laboratoire, puis porté à la glacière, on voit, 24 heures plus tard, la plupart des Trypanosomes encore vivants, quoique de mobilité diminuée. Ce sérum se comporte donc comme un sérum neuf. Il n'est pas plus agglutinant qu'un sérum de chèvre neuve.

Expérience faite avec le sérum de la chèvre 6 jours après la deuxième réinoculation. Deux souris reçoivent chacune 8/10 de c. c. du sérum mélangés à du sang à Trypan.; les deux souris meurent en 3 j. 1/2.

Expérience faite 7 jours après la 6^e réinoculation. Deux souris reçoivent chacune 1 c. c. du sérum de la chèvre en mélange avec du sang à Trypan.; les deux souris survivent, mais elles n'ont pas acquis l'immunité. Deux souris reçoivent en deux points différents du corps: 1 c. c. du sérum de la chèvre et du sang à Trypan.; ces deux souris meurent en 6 jours. Deux souris témoins meurent en 4 jours et 1/2.

Le sérum de chèvre utilisé dans cette expérience, conservé 6 jours à la

glacière, a donné des résultats encore moins satisfaisants; même en mélange avec le sang à Trypan., il n'a pas empêché l'infection de se produire.

Expérience faite 7 jours après la 8^e réinoculation. Une souris inoculée avec 1 c. c. de sérum et du sang à Trypan. en mélange ne s'infecte pas. Une souris inoculée avec 1/2 c. c. de sérum et du sang à Trypan. en mélange meurt en 5 jours. Une souris inoculée avec 1 c. c. de sérum et du sang à Trypan. au même point, ne s'infecte pas. Une souris inoculée avec 1 c. c. de sérum et du sang à Trypan., en deux points différents, meurt en 4 jours. Une souris inoculée avec 2 c. c. de sérum et du sang à Trypan. en deux points différents, meurt en 3 j. 1/2, aussi vite qu'une souris témoin. Deux souris qui ont reçu, l'une 1 c. c. de sérum et l'autre 2 c. c. sont inoculées 29 heures après avec du sang à Trypan.; elles meurent aussi vite qu'une souris témoin.

Le même sérum, conservé 14 jours à la glacière et essayé de nouveau, n'a plus aucune action en mélange.

Expérience faite 7 jours après la 11^e réinoculation. Une souris inoculée avec 1 c. c. de sérum et 1/20 de c. c. de sang à Trypan. en mélange ne s'infecte pas. Une souris inoculée avec 1/2 c. c. de sérum et 1/20 de c. c. de sang à Trypan. en mélange meurt en 8 jours. Une souris inoculée avec 1 c. c. de sérum et du sang à Trypan. en deux points différents meurt en 5 jours. Les souris témoins meurent en 5 jours et 5 j. 1/2.

Expériences faites avec le sérum de la chèvre saignée 6, respectivement 7 jours après la 15^e et la 16^e réinoculations. Ce sérum n'a aucun pouvoir curatif. Injecté 40 heures avant les Trypan. ou en même temps qu'eux, mais en un point différent du corps, le sérum, à la dose de 1 et même 2 c. c., n'a aucune action. Employé en mélange avec le sang à Trypan., *il n'empêche pas l'infection, mais la retarde de plusieurs jours*. Ainsi, une souris inoculée avec un mélange de 1 c. c. de sérum et de 0 c. c. 05 de virus (avec Trypan. nombreux), est prise en 7 j. 1/2 et meurt en 9 j. 1/2 [le témoin, pris en 2 j. 1/2, meurt en 4 j. 1/2]; une souris inoculée avec un mélange de 1 c. c. de sérum et de 0 c. c. 2 du même virus, est prise en 6 jours et meurt en 8 j. 1/2; le témoin, pris en 4 j. 1/2, meurt en 3 j. 1/2].

Le pouvoir microbicide du sérum de la chèvre a donc baissé, malgré les nombreuses inoculations qu'elle a reçues. Mais il ne faut pas oublier que ces inoculations, surtout les dernières, ont produit de graves abcès et que l'immunisation a dû être suspendue à deux reprises.

Les expériences suivantes ont été faites avec le sérum d'un mouton guéri du Nagana¹, ayant l'immunité pour cette maladie et auquel on pratiquait, tous les huit jours environ, comme chez la chèvre, des injections sous-cutanées de sang de chien nagané, riche en Trypanosomes.

Expérience faite 7 jours après la 3^e réinoculation. Une souris est inoculée avec 1 c. c. de sérum du mouton et 1/20 de c. c. de sang à Trypan. en

1. Pour l'observation de la maladie de ce mouton, voir *Bull. Acad. de médecine*, 3 juin 1902, p. 669.

mélange; la souris ne s'infecte pas. Une souris inoculée avec 1 c. c. de sérum et 1/20 de c. c. de sang à Trypan. en deux points différents meurt en 2 j. 1/2 comme une souris témoin.

Expérience faite 7 jours après la 6^e réinoculation. Une souris inoculée avec 1 c. c. du sérum du mouton et 1/20 de c. c. de sang à Trypan. en mélange est prise en 5 jours et meurt en 10 jours; l'évolution de la maladie est irrégulière au point de vue de la durée de la maladie et de l'augmentation du nombre des Trypan., qui ne suit pas, comme d'ordinaire, une progression régulière. Une souris inoculée avec 1 c. c. de sérum et 1/20 de c. c. de sang à Trypan. en mélange est prise en 3 jours et meurt le 10^e jour; l'évolution de la maladie est irrégulière. Une souris inoculée avec 1 c. c. de sérum et 1/20 de c. c. du sang à Trypan. en deux points différents du corps meurt au bout de 4 j. 1/2. Deux souris témoins meurent au bout de 5 jours et 5 j. 1/2.

Expérience faite avec le sérum d'un autre mouton guéri du Nagana et ayant reçu depuis 3 inoculations de sang de chien nagané.

2 souris témoins, inoculées chacune avec 1/10 de c. c. de sang de chien à Trypan., meurent en 4 jours 1/2 et 6 jours. — 1 souris qui reçoit, en 2 points différents du corps, 2 c. c. de sérum et la même dose de virus que les témoins, ne contracte pas d'infection. — Il en est de même des 4 souris qui reçoivent en mélange le sérum et le virus: 1 c. c. de sérum et 1/10 c. c. de virus pour 2 d'entre elles; 1/2 c. c. de sérum et 1/10 c. c. de virus pour la 3^e; 1 c. c. de sérum et 1/2 c. c. de virus pour la 4^e.

M. le professeur Nocard a bien voulu nous communiquer la note très intéressante qui suit :

Une jeune vache est inoculée le 7 juin 1902, avec 2 c. c. de sang de rat nagané. Le 10 juin, la température de la vache monte à 40°8 et l'examen histologique du sang révèle l'existence de Trypan. non rares (1 à 2 par champ). A partir du 11 juin la température reste normale et l'examen histologique du sang est négatif.

Depuis le 11 juin cette vache a été inoculée 8 fois (inoculations intrapéritonéales). Elle a reçu au total 852 c. c. de sang de chat ou de chien, très riche en Trypanosomes. Son sang, inoculé à des souris à cinq reprises, les 20 juin, 14 juillet, 16 août, 3 septembre et 10 octobre, ne s'est montré infectieux que les deux premières fois.

Les souris inoculées sans succès les 16 août, 3 septembre et 10 octobre n'étaient pas vaccinées; elles ont succombé à une deuxième inoculation de sang virulent.

Le sérum de cette vache mélangé, à parties égales, avec du sang d'un animal nagané, retarde notablement l'apparition des Trypanosomes chez les animaux inoculés avec le mélange, mais il n'empêche ni l'infection, ni la

mort. Injecté sur un autre point que le sang virulent, il semble n'exercer aucune influence sur la marche de l'infection.

Le sérum de cette vache est très agglutinant pour les Trypanosomes.

Le sérum de cette vache, ayant acquis l'immunité pour le Nagana, n'avait donc qu'une très faible activité préventive, bien qu'on se fut efforcé de renforcer l'immunité au moyen d'injections intra-péritonéales de sang riche en Trypanosomes.

Les sérums de poule et d'oie ayant reçu des injections de sang riche en Trypanosomes, ont montré une activité préventive nulle ou très faible. Nous devons signaler, cependant, le fait suivant : une souris inoculée avec 1/2 c. c. de sérum de poule traitée, en mélange avec du sang à Trypanosomes, a survécu 15 jours, alors qu'une souris témoin mourait au bout de 7 jours; les Trypanosomes inoculés dans cette expérience étaient peu mobiles au moment de l'inoculation.

Les sérums des rats naganés ayant reçu de 3 à 7 injections arsenicales n'ont montré qu'une action préventive très faible. Nous avons constaté, comme Bruce, que l'arsenic n'avait pour le Nagana aucune vertu préventive. Les animaux traités préventivement par l'arsenic s'infectent aussi facilement et aussi rapidement que les autres, et l'évolution de la maladie n'est pas modifiée.

2° *Essais d'atténuation du virus.* — Nous avons employé différents procédés pour atténuer la virulence des Trypanosomes du Nagana.

Le sang des animaux atteints de Nagana perd assez rapidement sa virulence, quand il est conservé à la glacière ou à la température du laboratoire; au bout de quelques heures, les mouvements des Trypanosomes sont considérablement ralentis; au bout de 24 heures, on ne trouve que de rares Trypanosomes mobiles, quelquefois tous les Trypanosomes sont immobiles. Lorsqu'on inocule du sang ainsi conservé, la période d'incubation est notablement plus longue qu'avec le sang frais, contenant des Trypanosomes très mobiles, mais l'affaiblissement des Trypanosomes n'a pas d'autre effet sur l'évolution de la maladie; dès que les Trypanosomes se sont montrés dans le sang des animaux inoculés, ils s'y développent avec la rapidité ordinaire, et la maladie ne perd rien de sa gravité.

Nous avons expérimenté avec du sang à Trypanosomes.

chauffé à différentes températures et pendant un temps variable.

Lorsqu'on examine du sang riche en Trypanosomes du Nagana qui a été chauffé pendant 1 heure à la température de 41°, on constate que les parasites sont immobiles, déformés, globuleux; le sang ainsi chauffé produit l'infection avec un retard très marqué, mais la maladie ne perd rien de sa gravité; un chauffage plus prolongé à 41° et un chauffage d'une durée plus courte, aux environs de 44°, tuent les Trypanosomes. On voit donc que par le chauffage on ne réussit pas à atténuer la virulence du Nagana ou que, du moins, l'atténuation ne se traduit que par l'allongement de la période d'incubation de la maladie.

En mélangeant au sang d'un animal nagané une solution de bleu de toluidine à 1 p. 100, on atténue la virulence des Trypanosomes du Nagana. Chez les animaux inoculés avec ce mélange, la période d'incubation est plus longue que chez les animaux inoculés avec le sang pur.

Chez deux rats inoculés avec un mélange de sang à Trypanosomes 8 parties, et bleu de toluidine 1 partie, préparé depuis 20 minutes, les Trypanosomes ne se sont montrés dans le sang que du 7^e au 8^e jour.

Chez un cobaye inoculé avec un mélange de sang à Trypanosomes et de solution de bleu de toluidine à 1 p. 100, fait depuis deux minutes, les Trypanosomes ne se sont montrés dans le sang qu'au bout de 12 jours.

En général, l'affaiblissement de la virulence des Trypanosomes ne se révèle que par cet allongement de la période d'incubation; la maladie une fois déclarée, suit son cours normal. Il y a cependant des exceptions.

Chez une souris infectée avec du sang à Trypanosomes mélangé de bleu de toluidine, les Trypanosomes ont apparu le 8^e jour seulement après l'inoculation, et l'infection a eu une marche traînante tout à fait exceptionnelle.

Chez un rat inoculé dans les mêmes conditions, les Trypanosomes se sont montrés dans le sang le 5^e jour après l'inoculation, et ils ont disparu définitivement au bout de 3 à 4 jours: fait unique dans l'histoire du Nagana des rats. Ce Nagana atténué n'avait pas donné l'immunité au rat.

Ce dernier fait est à rapprocher des exemples de réinfection que nous avons cités (p. 800) chez des souris guéries du Nagana au moyen du sérum humain. Il semble prouvé qu'une atteinte de Nagana provoquée par un virus atténué ou jugulée par le traitement ne suffit pas à donner l'immunité; nous n'avons observé l'immunité contre le Nagana que chez des animaux (chèvre, mouton, vache) qui, après une infection de longue durée, avaient guéri spontanément. On peut en conclure qu'on arrivera difficilement à immuniser des animaux contre le Nagana en leur inoculant des Trypanosomes à virulence atténuée et en provoquant chez eux des formes légères du mal ¹.

Des inoculations préalables de sang à Trypanosomes conservé quelques jours à la glacière, ou quelques heures au-dessus de 40°, ou mis un certain temps en contact avec une matière colorante et ayant perdu toute virulence, n'empêchent pas l'infection que produit un virus frais ou atténué dans les conditions que nous venons d'exposer et ne changent rien à la marche de cette infection.

On a vu (p. 787) que R. Koch et Schilling ont essayé d'atténuer la virulence des Trypanosomes du Nagana en faisant passer ces parasites par des espèces animales différentes et qu'ils disent avoir obtenu, par ce procédé, quelques résultats favorables. On a vu aussi que les faits cités par ces auteurs n'étaient pas concluants.

D'après nos observations, la virulence de *Tr. Brucei* peut être un peu atténuée par le passage chez des espèces différentes, mais le Trypanosome se désadapte peu en passant d'une espèce à l'autre et, en tout cas, il récupère rapidement sa virulence, comme le prouve l'expérience suivante :

Le 24 avril 1902, un chien est inoculé avec le sang d'un mouton infecté de Nagana depuis 6 mois. Le 1^{er} mai, les Trypan. apparaissent chez le chien.

Le 2 mai, on inocule, avec quelques gouttes du sang du chien, fortement dilué dans l'eau physiologique citratée, un rat et deux souris; l'inoculation est faite sous la peau.

1. Une femelle de rat, inoculée le 23 septembre 1902 et soumise au traitement mixte alternatif par le sérum humain et l'arsenic, à partir du 25, fait, le 14 octobre, 7 petits, tous vivants et bien conformés; elle les élève. Le 10 novembre, les petits mangent seuls; deux d'entre eux sont inoculés sous la peau avec du sang à Trypanosomes en même temps que deux petits du même poids, provenant d'un rat non nagané; les quatre petits rats présentent la même sensibilité au Nagana, sensibilité un peu plus grande que celle des rats adultes.

Le 4 mai, les Trypan. apparaissent dans le sang du rat; le 6 mai, ils sont très nombreux, et le rat est trouvé mort le 7 au matin.

Le 4 mai, les Trypan. apparaissent dans le sang des souris; le 6, ils sont très nombreux, et, le 7 au matin, les deux souris sont trouvées mortes.

Des Trypanosomes qui avaient passé par le mouton (6 mois) et ensuite par le chien ont donc donné lieu, chez le rat et la souris, à des infections aussi aiguës que celles qui sont produites par les Trypanosomes inoculés de rat à rat ou de souris à souris.

Il est possible, d'ailleurs, que l'atténuation du virus pour un espèce donnée se produise à la suite de très nombreux passages chez une autre espèce; c'est peut-être le cas du virus avec lequel nous avons fait nos expériences. Alors que le Nagana est très grave chez les Bovidés, en Afrique, notre virus, inoculé par M. Nocard à trois vaches, n'a produit chez ces animaux que des infections légères. La différence d'action peut tenir à une question de race des Bovidés; mais elle peut tenir aussi à une atténuation due aux innombrables passages par Mammifères divers (autres que des Ruminants), qu'a subis le virus depuis 1896, époque à laquelle il a été importé du Zouloulant en Europe. En tout cas, il serait très important d'essayer la virulence des Trypanosomes, que nous avons actuellement en mains, sur les Bovidés de l'Afrique australe; peut être, si notre seconde hypothèse est vraie, ce virus est-il devenu un vaccin, utilisable en Afrique, pour préserver les Bovidés de l'infection naturelle.

*
* *

En résumé, en ce qui concerne le traitement du Nagana, l'acide arsénieux et le sérum humain sont les seuls médicaments auxquels nous avons reconnu une activité incontestable.

L'acide arsénieux peut rendre des services quand il s'agit de prolonger la vie d'animaux de trait; en dehors de ces conditions spéciales, son emploi ne peut pas être conseillé; les animaux ainsi traités ne guérissent presque jamais, ils sont une cause d'infection pour les animaux sains; enfin, il serait dangereux de donner, à des animaux destinés à la boucherie, les fortes doses d'acide arsénieux qui sont nécessaires pour combattre le Nagana.

Le sérum humain, qui nous a donné quelques guérisons

complètes chez les souris, ne fait, le plus souvent, comme l'arsenic, que retarder la mort; d'ailleurs, le traitement des gros animaux par le sérum humain est impraticable, à cause des doses de sérum qu'il faudrait employer.

Nous n'avons pas mieux réussi à prévenir le Nagana qu'à le guérir; mais nous ne donnons pas comme définitifs les résultats auxquels nous sommes arrivés; nous comptons poursuivre nos recherches, et ces recherches, si importantes, seront évidemment poursuivies également par d'autres observateurs. Peut-être des expériences faites sur des espèces animales autres que celles qui étaient à notre disposition pourraient-elles aboutir. Il serait intéressant, par exemple, d'expérimenter sur les antilopes ou sur les buffles d'Afrique qui, souvent infectés de Nagana, présentent à la maladie une grande résistance. De pareilles expériences ne pourraient être faites qu'en Afrique.

Dans l'état actuel de nos connaissances, on peut dire qu'il n'existe aucune médication efficace et pratique contre le Nagana et qu'on ne connaît pas de procédé sûr d'immunisation des animaux contre cette maladie. Ces conclusions s'appliquent aussi au Surra, si voisin du Nagana. Les mesures de prophylaxie destinées à restreindre les zones d'endémicité de ces maladies et à empêcher leur importation dans les pays encore indemnes ont, par suite, une très grande importance.

On devra étudier, dans tous les pays, la répartition des maladies à Trypanosomes, signaler avec précision les zones dangereuses et rechercher comment ces maladies se propagent. Nous ne sommes exactement renseignés à ce sujet que pour le Nagana; on sait que c'est la Mouche tsétsé (*Glossina morsitans*) qui propage cette maladie dans l'Afrique centrale. La tsétsé n'est dangereuse qu'autant qu'elle a piqué récemment des animaux atteints de Nagana; il est prouvé qu'elle s'infecte surtout en piquant le gros gibier: antilopes et buffles. Les recherches de Bruce ont démontré que ces animaux étaient souvent naganés, mais sous des formes latentes.

Foa¹ et Theiler² constatent que la destruction du gros gibier a toujours pour effet d'assainir les régions à tsétsé et à Nagana. La civilisation d'un pays a pour résultat constant la

1. FOA, *Du cap au lac Nyassa*, Paris, 1897.

2. THEILER, *Schweizer-Archiv f. Thierheilkunde*. XLIII, 1901.

destruction ou le refoulement du gros gibier; on peut donc espérer que les zones à Nagana iront en se restreignant, à mesure que les Européens avanceront davantage dans ce continent africain, dont les côtes seules étaient connues naguère, mais que sillonnent déjà, sur beaucoup de points, des chemins de fer de pénétration.

Quand on connaît bien les zones à tsétsé et à Nagana, on peut souvent prendre des mesures préventives efficaces, s'il s'agit seulement de traverser ces régions; une de ces mesures, la meilleure peut-être, consiste à ne voyager que la nuit; la tsétsé ne pique en effet que le jour. On a conseillé d'enduire les animaux que l'on veut protéger avec différentes substances, la créoline notamment¹. Dans le hinterland du Togo où règne le Nagana, les indigènes enduisent les animaux avec le suc d'une plante : *Amomum Melegueta*, pour les protéger contre les piqûres de la tsétsé². La fumée éloigne les tsétsés et peut être utilisée, dans les campements par exemple.

Les pays qui ont été épargnés jusqu'ici par les maladies à Trypanosomes doivent prendre des mesures contre l'importation de ces maladies, d'autant plus à redouter aujourd'hui, que le commerce d'exportation du bétail vivant a pris une grande extension.

De graves épizooties de Surra ont été observées récemment à Java³, aux Philippines⁴ et à l'île Maurice⁵.

L'épizootie qui a été pour l'île Maurice une véritable calamité présente un grand intérêt et les enseignements qu'on peut tirer de son histoire doivent être attentivement médités.

Maurice s'approvisionne ordinairement de bétail à Madagascar; pendant la guerre du Transvaal, beaucoup d'animaux ayant été achetés pour l'Afrique du Sud, on a dû faire venir des bestiaux de l'Inde, et ce sont des Bovidés infectés de Surra, venant de l'Inde, qui ont causé l'épizootie. La nature de la maladie ayant été méconnue, les animaux malades ont été vendus et répartis sur différents points de l'île; on s'explique ainsi que l'épizootie se soit propagée avec rapidité.

1. STORDY, *The Veterinarian*, janv. 1899, LXXII, p. 11-20.

2. SCHILLING, *Centralbl. f. Bakter.*, Erste Abteil. Original, 1902, XXXI, p. 452.

3. SCHAT, *Arch. de l'industrie sucrière à Java*, 1902.

4. *New-York med. Journal*, 8 février 1902, et SALMON et STILES, *l. c.*

5. LAVERAN et NOCARD, *Acad. de méd.*, 1^{er} juillet 1902. — LAVERAN, *Acad. de méd.*, 28 octobre 1902.

Au commencement du mois de juin dernier, la mortalité occasionnée par le Surra chez les Équidés et les Bovidés était effrayante; les propriétaires de Maurice se demandaient avec inquiétude s'il serait possible de rentrer la récolte des cannes à sucre.

Quelques-unes de nos colonies : la Réunion, Madagascar, la Cochinchine, le Tonkin, sont évidemment très exposées à devenir le théâtre d'épizooties aussi meurtrières que celle qui vient de causer à Maurice de si grandes pertes. Quelques cas d'une maladie à Trypanosomes ont été constatés déjà à la Réunion par le Dr Vassal¹, et M. Carrougeau, vétérinaire de l'Institut Pasteur de Nha-Trang, a observé sur les Équidés de l'Annam des cas non douteux de Surra. M. Carrougeau a bien voulu nous envoyer des préparations du sang des animaux malades; les Trypanosomes existant dans ces préparations sont identiques à ceux qui ont produit l'épizootie de Maurice.

L'importation des animaux provenant des régions contaminées doit être interdite ou du moins sévèrement réglementée.

Les animaux vivants importés de régions suspectes doivent être examinés avec soin par des vétérinaires, à l'arrivée dans les ports, et abattus si l'existence d'une Maladie à Trypanosomes est constatée.

« Alors même que des animaux infectés de Surra ou de Nagana ont été introduits dans un pays indemne, on peut prendre encore des mesures efficaces pour empêcher la propagation de la maladie, à condition que le diagnostic soit porté rapidement. Les animaux infectés seront abattus dès que la maladie aura été reconnue, les animaux suspects seront isolés.

« Lors de l'épidémie de Java, une visite générale des étables a été prescrite, les animaux malades ont été abattus ou isolés des animaux sains; on s'est efforcé de protéger les animaux contre les piqûres des mouches, et on a réussi ainsi à limiter l'épizootie; ces mesures sont, on le conçoit, d'une application d'autant plus difficile que la maladie a pris plus d'extension au moment où sa véritable nature est reconnue; il importe donc que l'attention des vétérinaires soit attirée sur ces Maladies à Trypanosomes dont le diagnostic est d'ailleurs facile, à condition de faire l'examen du sang². »

1. LAVERAN et NOCARD, *loc. cit.*

2. LAVERAN et NOCARD, *loc. cit.*

Le 1^{er} juillet dernier, l'Académie de Médecine a émis le vœu
« que l'importation en France ou dans les Colonies françaises
d'animaux provenant de pays où règnent le Surra, le Nagana
ou d'autres Maladies à Trypanosomes, soit interdite ou sévère-
ment réglementée ».

RECHERCHES SUR L'ABSORPTION DE LA TOXINE TÉTANIQUE

PAR MM. A. MARIE ET V. MÖRAX

(Travail du laboratoire de M. Roux.)

L'affinité de la tétanine ¹ pour la substance nerveuse constitue une des propriétés les plus remarquables et les plus intéressantes de cette toxine. En quelque point qu'on l'inocule chez les mammifères, on assiste toujours, après une période d'incubation, à l'éclosion de réactions nerveuses presque exclusivement motrices, qui semblent traduire la souffrance du neurone moteur et font supposer une action élective sur lui.

Le but des expériences que nous résumerons dans ce travail a été de rechercher le mécanisme de la propagation de la toxine, depuis son point de pénétration jusqu'à la cellule sensible.

1

ABSORPTION DE LA TOXINE TÉTANIQUE PAR LES NERFS PÉRIPHÉRIQUES

Il ne suffit pas de constater des troubles de la motilité pour affirmer que la tétanine a lésé directement le neurone moteur. On peut supposer avec M. Goldscheider que l'état d'activité de ce neurone se manifeste par le seul fait de l'application périphérique de la toxine; avec MM. Vaillard et Vincent que la tétanine agit à la fois sur la moelle épinière et sur le muscle. Mais on peut aussi admettre que le neurone moteur se trouve lésé par la pénétration de la toxine dans la substance d'un de ses éléments, cylindraxile ou cellulaire, et que, suivant l'un ou l'autre cas, la nature ou l'ordre d'apparition des symptômes réactionnels seront différents.

Lorsqu'on expérimente sur le lapin, animal relativement peu sensible à l'intoxication tétanique, on constate que l'injection d'une dose mortelle dans un muscle de la patte donne lieu, après 24-36 heures d'incubation, à une contracture localisée d'abord aux muscles de ce membre, et qui est suivie d'un

1. Nous employons le mot « tétanine » comme synonyme de toxine tétanique

tétanos généralisé. Introduisons au contraire la toxine directement dans le sang, en ayant soin d'injecter une dose dix fois supérieure à la dose inoculée dans le muscle : nous verrons éclater après 48 heures environ des contractures généralisées d'emblée : c'est le téτανos splanchnique.

Pour expliquer ces différences entre les deux formes de téτανos, l'un de nous¹ avait émis l'hypothèse d'une pénétration de la toxine par les nerfs périphériques dans les cas de téτανos local.

L'hypothèse de l'absorption par les nerfs périphériques était basée sur les expériences suivantes :

1° L'inoculation, dans le nerf sciatique d'un lapin, d'une dose de toxine insuffisante pour tuer l'animal par la voie sanguine, provoque l'apparition d'accidents téτανiques;

2° L'inoculation à un lapin d'une dose mortelle dans la patte antérieure, qu'une section du deuxième nerf cervical a totalement paralysée, n'est suivie d'aucun phénomène téτανique.

L'expérience de M. Wassermann², conçue dans le but d'appuyer l'hypothèse des chaînes latérales dans la théorie de M. Ehrlich, vint donner la démonstration *in vitro* la plus frappante de l'affinité de la toxine téτανique pour la substance nerveuse. On sait, en effet, qu'il suffit d'introduire une faible quantité d'émulsion cérébrale dans une solution de téτανine pour fixer la totalité du poison et pour rendre le liquide surnageant inoffensif.

Le même résultat peut être obtenu avec une émulsion de moelle épinière, à la condition d'augmenter la dose de substance nerveuse.

En ce qui concerne les nerfs périphériques, qui sont en partie constitués par le cylindraxe, expansion du protoplasma du neurone, M. Knorr³ dit ne connaître aucun résultat positif direct. Il ajoute cependant que les expériences permettent de supposer dans les nerfs la présence d'une substance analogue à celle que M. Wassermann a mise en évidence dans le cerveau

1. A. MARIE, Recherches sur la toxine téτανique. *Ces Annales*, 1897, juillet, p. 597.

2. WASSERMANN. *Berl. Klin. Woch.* 1898, n° 4.

3. KNORR, Das Tetanusgift und seine Berichtigungen zum thierischen Organismus, *Munchener Med. Woch.* 1898, n° 12.

et dans la moelle. Nous avons cherché à élucider ce point par les expériences suivantes.

EXPÉRIENCE I.

On broie dans un mortier 5 grammes de nerf sciatique d'un chien, au contact d'une solution de 5 doses mortelles pour le cobaye de toxine tétanique. La même opération est faite avec la substance cérébrale du chien. Après 24 heures de séjour à la glacière, on ajoute à chaque émulsion 2 c. c. d'eau physiologique, puis on centrifuge. On injecte séparément le dépôt et le liquide à un cobaye et à une souris. Le tableau ci-dessous résume une de ces expériences.

27 JUIN 1902	INJECTION du	28	29	30	1	2	3	OBSERVATIONS
Cobaye.	Dépôt.	0	—	=	=	=	=	Inj. dans la patte.
—	Liquide.	0	0	0	0	+		Inj. dans le périt. Pas de tétanos.
Souris.	—	0	0	0	0	0	0	Inj. dans la patte.
Cobaye.	Dépôt.	—	=	≡	+			Inj. dans la patte.
—	Liquide.	0	=	+				Inj. dans le périt.
Souris.	—	=	+					Inj. dans la patte.

Dans une autre expérience, nous avons étudié comparativement le pouvoir fixateur du foie, de la rate, du cerveau et du sciatique. Il en est ressorti que *les sciatiques ne présentent pas un pouvoir fixateur supérieur à celui du foie ou de la rate*, alors que le pouvoir neutralisant du cerveau apparaissait aussi nettement que dans l'expérience ci-dessus.

On serait tenté de conclure de ces expériences que la toxine tétanique n'a aucune affinité pour la substance des nerfs. Il n'en est rien, car, ainsi que M. Meyer ¹ l'a signalé, la toxine tétanique se retrouve dans la substance des nerfs périphériques lorsqu'une injection de plusieurs doses mortelles a été faite dans les muscles qu'ils innervent.

L'expérience de M. H. Meyer consiste en ceci : on injecte

1. HANS MEYER, Tetanus Studien. Festschrift zur Feier des sechz. Geburtst. von Max Jaffe, Braunschweig, 1901, p. 295.

dans la patte d'un cobaye 10 doses mortelles de toxine tétanique ; après 24 heures, lorsque l'animal est en plein tétanos, ou encore après sa mort, on resèque le sciatique correspondant entre le creux poplité et l'échancrure sciatique, et on l'insère sous la peau de la patte postérieure d'une souris : celle-ci prend le tétanos. Si l'on injecte de même à d'autres souris moelle, cerveau ou tout autre organe, à l'exception du sang, nous savons que le résultat est négatif¹. Cette expérience de M. Meyer fournit donc une démonstration directe de la présence de la tétanine dans le nerf périphérique. Il s'agit bien, en effet, d'une fixation élective de la tétanine sur la substance du nerf : les tissus qui entourent celui-ci, le muscle, par exemple, à la condition que ce ne soit pas celui dans lequel la toxine a été injectée, ne donnent jamais de tétanos aux souris qui les reçoivent sous la peau.

Voici une de ces expériences : on injecte dans les muscles de la patte d'un cobaye 10 doses mortelles de toxine tétanique ; 24 heures après, on sacrifie l'animal et on prélève des fragments de tissus.

EXPÉRIENCE II.

11 AOÛT 1902	INOCULATION SOUS-CUTANÉE DE	12	13	14	15
Souris.	0,5 c. c. Sang du cœur.	≡	+		
—	Sciatique gauche.	0	≡	+	
—	Languette musculaire avoisinant le sciatique.	0	0	0	0
—	Muscle extenseur de la cuisse.	0	0	0	0
—	Nerf brachial.	0	0	0	0
—	Tissu adipeux du creux poplité.	0	0	0	0

On peut démontrer indirectement qu'il se produit une fixation de la toxine sur la substance cylindraxile du nerf périphérique. Il suffit pour cela de provoquer la dégénérescence du cylindraxe par la section du tronc nerveux au voisinage de son origine rachidienne. Réalisons cette section chez 3 lapins, puis attendons 2,6 et 15 jours avant d'injecter dans les deux

¹ A. MARIE, *loco cit.*

pattes 10 doses mortelles de tétanine. Reséquons ensuite les sciatiques après 24 heures ; l'inoculation du sciatique normal servira de témoin à l'inoculation du sciatique sectionné.

EXPÉRIENCE III.

TEMPS écoulé entre la section du nerf et l'injection de la tétanine.	SOURIS inoculée avec	1	2	3	4	5	6
2 jours....	Sciatique normal.	—	≡	+			
	— sectionné.	—	≡	+			
6 —	— normal.	—	≡	+			
	— sectionné.	0	0	0	—	—	—
48 —	— normal.	0	0	0	—	—	≡+
	— sectionné.	0	0	0	0	0	0

De cette expérience il résulte que le nerf séparé de son centre médullaire présente encore après 48 heures des propriétés fixatrices aussi fortes que celles qu'il possède dans les conditions normales. Après 6 jours, au contraire, il ne fixe plus de quantités appréciables de tétanine. Or, c'est entre le 1^{er} et le 3^e jour que le segment périphérique du nerf sectionné du cobaye perd son excitabilité, et que se produisent la dégénération et le morcellement du cylindraxe.

Nous sommes donc autorisés à conclure qu'il existe réellement une affinité spécifique de la tétanine pour le cylindraxe des troncs nerveux périphériques.

Demandons nous maintenant par quelle voie la toxine pénètre dans le nerf : par les terminaisons périphériques ou par les capillaires du tronc nerveux ?

Les expériences suivantes sont favorables à la première hypothèse.

EXPÉRIENCE IV.

On pratique sur un cobaye la section du sciatique, au niveau de l'articulation du genou, puis on injecte dans les muscles du mollet 10 doses mortelles de tétanine.

Après 24 heures, l'animal présente un tétanos généralisé :

on enlève le bout central du sciatique que l'on insère sous la peau de la patte d'une souris : celle-ci ne présente par la suite aucun symptôme tétanique.

Sur un autre cobaye, nous avons sectionné le sciatique au niveau de sa racine et inoculé la même dose de tétanine dans le mollet. L'insertion du bout périphérique du nerf a provoqué chez la souris des accidents tétaniques graves.

Ces expériences nous fournissent déjà des indications précises sur le mode de pénétration de la toxine dans le nerf.

Le tronc nerveux séparé de son centre ganglionnaire conserve ses propriétés d'attraction pour la toxine, sous la condition expresse de garder ses connexions naturelles avec le muscle ¹. Lorsque, au contraire, le tronc nerveux a été séparé de ses éléments terminaux, il ne renferme pas de toxine.

Il nous a paru intéressant de déterminer le temps nécessaire à la toxine pour pénétrer en quantité appréciable dans le tronc nerveux. Dans ce but, nous avons repris l'expérience de M. Meyer en enlevant le tronc du sciatique à des temps variables, 5, 10, 30, 60 minutes, après l'injection de la toxine dans les muscles du mollet.

L'insertion du sciatique dans la patte des souris n'a jamais donné le tétanos quand le tronc nerveux était réséqué moins de 1 heure après l'injection. Par contre, toutes les fois que le nerf était prélevé plus de 60 minutes après l'inoculation de la toxine, les souris présentaient un tétanos plus ou moins sévère.

Voici cette expérience :

1. Néanmoins, l'expérience démontre que la pénétration du nerf par la toxine est beaucoup plus lente lorsque le centre médullaire est détruit. Alors que, dans les conditions normales, le sciatique se montre tétanigène pour les souris 1 heure 1/2 après l'injection dans les muscles du cobaye normal, il faut attendre 24 heures pour constater une dose équivalente de tétanine dans le sciatique d'un animal qui a subi la section de ce nerf à l'échancrure, ou la destruction de sa moelle lombaire.

EXPÉRIENCE V.

26 JUIL. 1902	INOCULATION DE	17	18	19	20	21	OBSERVATIONS
Souris.	Sciastique.	0	0	0	0	0	15 minutes après l'injection.
Souris.	0,5 sang du cœur.	—	≡	≡	≡	≡	
Souris.	Sciastique.	0	0	0	0	0	30 minutes.
Souris.	0,5 sang du cœur.	—	≡	≡	+		
Souris.	Sciastique.	—	≡	≡	+		60 minutes.
Souris.	0,5 sang du cœur.	≡	≡	≡	+		

L'absorption de la toxine par le nerf est donc assez rapide : une heure après l'injection, celui-ci en contient des quantités mortelles pour la souris. La pénétration dans le sang est, il est vrai, antérieure, puisque 15 minutes après l'injection ce liquide en renferme déjà une notable proportion. Nous verrons plus loin l'importance et le rôle relatif de ces deux modes de diffusion de la toxine au point de vue de sa pénétration dans la cellule nerveuse.

II

ÉTAT DE LA TÉTANINE DANS LES NERFS PÉRIPHÉRIQUES

Les expériences *in vivo* nous ayant démontré l'affinité de la tétanine pour les nerfs périphériques, nous sommes amenés à expliquer ce fait en supposant une combinaison de cette toxine avec la substance du cylindraxe. Étudions donc les caractères de cette combinaison ou, si l'on veut, de cette fixation :

1° L'un des plus remarquables, c'est la grande facilité avec laquelle on réussit à séparer les deux éléments de la combinaison, contrairement à ce que l'on observe lorsqu'on a mélangé la tétanine avec la substance cérébro-médullaire. La toxine, fixée sur le nerf pendant la vie de l'animal, ne tarde pas à

s'en séparer complètement : l'expérience *in vivo*, consistant dans l'inoculation à la souris du sciaticque du cobaye tétanique, nous a déjà révélé ce fait; l'expérience suivante *in vitro* va rendre cette propriété encore plus manifeste.

EXPÉRIENCE VI.

Enlevons le sciaticque d'un cobaye qui a reçu dans les muscles du mollet 10 doses mortelles, et plongeons le nerf pendant 1 heure dans 1 c. c. d'eau physiologique stérilisée, puis inoculons à une souris le liquide et à une autre le nerf. Répétons la même expérience en prolongeant pendant 6 et 24 heures la durée de la macération dans l'eau physiologique.

DURÉE de la macération.	INOCULATION à la souris du	1	2	3	4	5
1 heure	Liquide.....	—	—	==	==	==
	Nerf.....	0	—	—	==	==
6 heures.....	Liquide.....	—	≡	+		
	Nerf.....	0	0	0	0	0
24 —	Liquide.....	—	==	==	==	≡
	Nerf.....	0	0	0	0	0

Une heure a donc suffi pour que la toxine passe en grande partie dans le liquide de macération; après 6 heures la totalité de la toxine semble avoir abandonné la substance nerveuse.

2° On sait que la combinaison du cerveau avec la toxine n'est pas la même pour toutes les espèces animales, que le cerveau du lapin, par exemple, est beaucoup moins actif que celui du cobaye. En serait-il de même pour la combinaison de la toxine avec le nerf?

Pour résoudre cette question, il nous suffira de doser la quantité de toxine contenue dans le sciaticque d'un lapin, inoculé dans les muscles du mollet, dans les mêmes conditions qu'un cobaye témoin, tout en tenant compte de la différence de sensibilité des deux animaux à la tétanine. Nous injectons donc au cobaye ainsi qu'au lapin 10 doses mortelles pour chacun d'eux (en poids 0,001 pour le cobaye et 0,1 pour le lapin).

Après 24 heures, on enlève les sciaticques : celui du cobaye pèse 0,023 milligr; il est inséré sous la peau d'une souris qui meurt du tétanos en 48 heures.

Le sciaticque du lapin est divisé transversalement en deux tronçons dont l'un pèse 0,023, poids égal au nerf du cobaye, l'autre, le double, exactement 0,045 milligr.

La souris inoculée avec le plus petit fragment ne présente aucun symptôme; la seconde est atteinte au 3^e jour, elle ne présente qu'un tétanos très léger.

On se trouve amené à conclure que *l'affinité de la toxine pour le nerf du lapin est très inférieure à celle qu'elle présente pour le nerf du cobaye*. Nous rapprocherons ce fait de la faible sensibilité du lapin vis-à-vis de la toxine tétanique.

3^o Maintenant, si l'on compare l'affinité si grande de la tétanine pour la substance des corps cellulaires des neurones avec l'attraction élective, mais fugace, de cette toxine pour leurs expansions périphériques, on se trouve conduit à admettre l'existence de phénomènes de déplacement de la tétanine dans la substance cylindraxile; ces phénomènes donnent l'impression d'une véritable circulation de la toxine dont le courant serait toujours cellulipète, se produisant par conséquent de la substance douée de l'affinité la plus faible vers celle qui possède l'affinité la plus forte : c'est ce que les expériences suivantes vont démontrer.

Nous avons vu qu'une heure après l'inoculation de la tétanine dans les muscles de la patte du cobaye, le nerf sciaticque se trouve déjà imprégné de toxine. Nous savons d'autre part qu'en sectionnant le sciaticque au creux poplité, on empêche la pénétration de la tétanine dans le bout central du nerf. Pratiquons maintenant la section du sciaticque au creux poplité, non pas avant, mais 2 ou 24 heures après l'inoculation de la toxine, c'est-à-dire à un moment où nous savons que le nerf est chargé de cette substance. Notre section aura pour but de supprimer l'arrivée de nouvelles quantités de toxine. S'il existe réellement un déplacement cellulipète de celle-ci, le bout central demeuré en connexion avec le centre médullaire devra se dépouiller peu à peu de la toxine qu'il contenait : c'est ce que l'expérience vérifie pleinement.

EXPÉRIENCE VII.

6 cobayes reçoivent chacun dans les muscles du mollet 10 doses de tétanine; 1 h. 1/2 après l'injection, le sciatique est sectionné au creux poplité et le tronc nerveux laissé en place. Puis 15', 60', 90', 2 heures et 24 heures après la section, on enlève le tronc de sciatique et on l'inocule à des souris.

25 AOUT 1902	ABLATION du sciatique après	Inoculation à la	1	2	3	4	5	6
Cobaye 1.	Témoin.	Souris.	0	=	=	≡	+	
— 2.	15 minutes.	—	—	—	=	=	=	=
— 3.	60 —	—	—	—	=	=	=	=
— 4.	90 —	—	0	—	=	=	=	=
— 5.	2 heures.	—	0	0	0	0	0	—
— 6.	24 —	—	0	0	0	0	0	0

Il ressort très nettement de cette expérience que le nerf s'est dépouillé de la presque totalité de la toxine qu'il contenait 2 heures après le moment où le courant d'arrivée a été interrompu (section au creux poplité). En comparant le résultat de l'insertion du sciatique du cobaye n° 2, sectionné au creux poplité 15 minutes avant son ablation, avec le cas du cobaye n° 1, le témoin, on voit que ce court espace de temps a suffi pour que le nerf se débarrasse d'une partie de sa toxine et pour que son inoculation ne soit plus mortelle pour la souris.

Le déplacement de la toxine dans le neurone périphérique est cellulipète; de plus il est exclusivement cellulipète. Pour le démontrer, nous pouvons injecter la toxine dans la moelle lombaire du cobaye, puis, une fois le tétanos généralisé, inoculer le sciatique à des souris.

EXPÉRIENCE VIII.

On injecte 1 goutte d'une solution concentrée de tétanine, représentant 10 doses mortelles, dans le renflement lombaire de la moelle d'un cobaye.

L'animal meurt en moins de 24 heures avec des symptômes

tétaniques généralisés. L'inoculation aux souris donne les résultats suivants pour les nerfs, la moelle épinière et le sang :

SOURIS INOCULÉE AVEC	1	2	3	4	5	6	7
N. sciatique.	0	0	0	0	0	0	0
N. brachial.	0	0	0	0	0	0	0
Moelle dorsale (1 centim. de long).	0	=	≡	≡	+		
Moelle lombaire (1 centim.)	=	+					
Sang 0,5 c. c.	—	=	+				

Cette expérience démontre que *la tétanine ne diffuse pas dans le cylindraxe après son injection au niveau du centre cellulaire*, tout au moins en ce qui concerne le neurone périphérique; car, dans la moelle, on trouve la toxine tétanique non seulement au point où elle a été injectée, mais encore au-dessus.

Le courant cellulipète de la tétanine est par conséquent le seul qui se fasse dans la substance cylindraxile du neurone périphérique.

Lorsque, au lieu de prélever le sciatique quelques heures après une injection dans la patte, on attend que l'animal présente des symptômes tétaniques généralisés, on peut constater par l'inoculation que le sciatique du côté opposé à l'injection de la tétanine renferme, lui aussi, de la toxine, bien qu'en plus faible quantité.

L'expérience ci-dessus nous ayant démontré l'absence d'un courant descendant de diffusion, nous sommes conduits à admettre que le nerf a puisé la tétanine en circulation dans les humeurs par ses expansions périphériques ou par les étranglements annulaires disposés le long des filets nerveux.

L'expérimentation va nous permettre de préciser ce dernier point.

EXPÉRIENCE IX.

Deux cobayes subissent la section du sciatique de la patte gauche, l'un au creux poplité, l'autre au niveau de l'échancrure sciatique. Chacun d'eux reçoit ensuite dans la patte opposée, la patte droite, 10 doses mortelles de tétanine. Après 24 heures,

les symptômes tétaniques sont généralisés : on tue les deux cobayes et on prélève leurs sciatiques gauches, un sciatique droit et le nerf brachial, qui sont inoculés à des souris. La portion de nerf réséquée chez le cobaye 1 est donc la même que chez le cobaye 2, celle qui va du jarret à l'échancrure sciatique.

25 AOUT 1902	24 HEURES APRÈS Inoculation à des souris.	27	28	29	30	31		
Cobaye 1 inoculé avec 10 doses dans la patte droite, après section du sciatique gauche dans l'échan- crure.	Sciatique droit.	—	=	=	≡	+		
	Sciatique gauche.	0	0	0	0	—	—	—
	Brachial.	0	0	0	0	0	0	0
Cobaye 2 inoculé comme le cobaye 1, après section du sciatique gauche au creux poplité.	Sciatique gauche.	0	0	0	0	0	0	0

Le sciatique sectionné à l'échancrure renfermait donc de petites quantités de toxine; le sciatique sectionné au creux poplité n'en contenait pas de quantités appréciables; enfin, le sciatique témoin du côté correspondant à l'inoculation de la tétanine a donné un tétanos mortel à la souris. Nous devons ainsi penser que seule l'absorption par les terminaisons périphériques joue un rôle important dans la pénétration du nerf par la tétanine. Comme il s'agit d'un point très éloigné du lieu d'injection, il est évident que la tétanine provient ici des humeurs en circulation.

Dans l'expérience relatée plus haut, on a vu que l'inoculation à la souris du nerf brachial du cobaye n'avait été suivie d'aucun effet. Cela ne signifie pas que le nerf ne renfermait pas de toxine, mais seulement que la quantité fixée était trop faible pour provoquer des manifestations tétaniques chez la souris.

Il résulte, en effet, de la même expérience que tout filet nerveux doit absorber la tétanine en circulation dans les humeurs, et la transporter de ses terminaisons périphériques jusqu'au centre médullaire. Si l'absorption n'est pas prédominante dans une certaine zone d'innervation (comme cela se produit quand on injecte la tétanine dans un muscle), les symptômes sont génés-

ralisés d'emblée, car ils n'apparaissent que si l'ensemble des neurones renferme une quantité suffisante de tétanine.

Voilà pourquoi si, au lieu d'inoculer un seul nerf sciatique, on insère sous la peau de la même souris les deux sciaticques et les nerfs brachiaux, on constatera la présence de la tétanine même lorsque l'inoculation aura été faite ailleurs que dans un membre, par exemple dans le corps vitré ou dans le testicule.

EXPÉRIENCE X.

Deux cobayes reçoivent chacun 10 doses de tétanine, l'un dans le corps vitré, l'autre dans le testicule. Après 24 heures, les animaux étant en plein tétanos généralisé, on les sacrifie et on inocule à des souris quelques-uns de leurs nerfs et un peu de sang.

COBAYES	SOURIS inoculées avec	1	2	3	4	5	6
Inoculation intratesticulaire.	1 n. sciatique.	0	0	0	0	0	0
	1 n. —	0	—	=	=	=	=
	2 n. brachiaux.	0	—	=	=	=	=
	0,5 c. c. sang.	≡	+				
Inoculation dans le corps vitré.	2 n. sciaticques.	—	—	—	—	—	—
	2 n. brachiaux.	—	—	—	—	—	—

Cette expérience prouve que l'absorption de la toxine par les nerfs périphériques est un phénomène constant et qui n'exige pas, pour se produire, de lésion de neurone périphérique.

D'autre part, il ressort jusqu'à l'évidence de la comparaison des expériences IX et X, avec l'expérience de M. Meyer, que le degré de concentration de la solution de toxine au niveau des terminaisons nerveuses périphériques influence directement l'absorption par le nerf.

CONCLUSIONS

L'absorption de la tétanine par les nerfs périphériques est la conséquence d'une affinité spécifique pour la substance cylindraxile. Cette affinité, qui n'apparaît pas dans les expériences *in vitro*, contrairement à ce qu'on observe avec la moelle ou avec

le cerveau, peut être mise en évidence avec la plus grande facilité par les expériences *in vivo*. La fixation de la tétanine sur les nerfs se fait très rapidement; elle présente le caractère particulier de n'être pas stable : nous avons en effet montré que la toxine tétanique une fois fixée se déplace dans le sens cellulipète avec une rapidité relativement faible. Cette circulation cylindraxile a pour effet de transporter la tétanine diluée dans les humeurs jusqu'à la cellule ganglionnaire.

Dans un mémoire ultérieur, nous chercherons à établir le rôle respectif des différents neurones dans cette fixation et dans ce transport de la toxine.

Un grand nombre de points sont encore obscurs dans l'absorption de la toxine tétanique; néanmoins nous croyons pouvoir formuler les hypothèses suivantes.

Injectée dans un muscle ou dans une région peu éloignée d'une masse musculaire, la toxine se répand dans la sérosité qui imprègne les tissus et passe en partie dans le sang où on la retrouve de très bonne heure. Dans la zone d'inoculation, la sérosité chargée de toxine s'est trouvée en contact avec les expansions nerveuses. Les nerfs moteurs ainsi que les nerfs vaso-moteurs l'absorbent et s'en remplissent à tel point qu'en un temps relativement court la substance du nerf périphérique en contient des quantités infiniment plus considérables que les humeurs qui baignent les tissus, à quelque distance du point d'absorption. La diffusion de la toxine suit une voie centripète : il s'agit d'un véritable mouvement de propagation que l'on pourrait comparer à l'absorption des liquides nourriciers par les racines d'une plante. La proportion de toxine contenue dans la lymphe au point d'injection reste pendant un certain temps (24 heures au moins) supérieure à la proportion contenue dans le sang, et par conséquent dans la lymphe en des points différents du corps. L'absorption par les filets nerveux de la région inoculée est donc pendant 24 heures supérieure à celle qui se produit dans les autres régions. Le neurone moteur correspondant sera par conséquent le premier saturé par la toxine, et cette saturation se manifestera par une contracture localisée, par un tétanos local. Cependant, en d'autres régions, les terminaisons nerveuses auront absorbé une certaine quantité de toxine, puisée au sein de la lymphe, quantité suffisante pour rendre sensible

la souffrance de leurs neurones d'origine : c'est alors qu'au tétanos local succédera le tétanos généralisé.

Nous ne sommes pas encore en état de décider si la tétanine est susceptible en outre de passer du neurone périphérique au neurone central, avec lequel il s'articule, et si les contractures sont attribuables à l'action de la toxine sur l'un ou l'autre de ces deux éléments cellulaires.

Dans l'absorption d'une toxine, il faut considérer non seulement le nombre des éléments absorbants, mais aussi la concentration de la solution de toxine : or cette concentration est toujours beaucoup plus considérable au point d'inoculation que dans les autres régions du corps, où la toxine ne diffuse que très diluée dans la masse du sang.

Cette absorption prépondérante par les filets nerveux de la région inoculée explique pourquoi l'injection, en plusieurs points du corps, d'une dose non mortelle de tétanine, provoque l'apparition d'un tétanos plus précoce et plus sévère que l'inoculation en un seul point.

Quand, au lieu d'injecter la toxine sous la peau ou dans le muscle, on l'introduit directement dans le sang ou dans un viscère, les symptômes tétaniques n'apparaissent que lorsque les neurones moteurs ont puisé dans le sang la toxine en circulation. Alors la tétanine atteint tous les neurones moteurs dans le même état de dilution, et ceux-ci l'absorbent simultanément, ce qui explique le début plus tardif des contractures et leur généralisation d'emblée dans le tétanos splanchnique.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES SÉRUMS PRÉCIPITANTS

PAR LE D^r A. FALLOÏSE

(Travail du laboratoire de physiologie de l'Université de Liège.)

Bordet (1), en injectant du sang défibriné de poule à des lapins, constata, dans le sérum des lapins ainsi injectés, l'apparition de trois propriétés nouvelles : le sérum est, vis-à-vis du sang de poule, agglutinant, globulicide et précipitant, c'est-à-dire qu'il produit, mélangé avec du sérum de poule, un précipité plus ou moins abondant. Tchistovitch (2) étudia cette propriété précipitante. Il constata que des lapins injectés de sérum de cheval donnent un sérum qui trouble et précipite le sérum du cheval; le sérum des lapins injectés de sérum d'anguille trouble et précipite le sérum d'anguille.

Nolf (3) étudia le phénomène de plus près. Il démontra d'une façon irréfutable que le pouvoir précipitant était dû au sérum ou au plasma seuls, et que les globules rouges ne jouaient aucun rôle dans sa production. Ce résultat acquis, il poussa plus loin l'analyse. Le sérum est une solution de divers albuminoïdes encore mal connus. On peut en extraire un groupe, facile à précipiter, appelé « globuline », un autre plus soluble appelé « albumine » ou *sérine*.

Le pouvoir précipitant est-il dû à l'un ou à l'autre de ces groupes d'albuminoïdes, ou à tous deux à la fois?

Pour résoudre cette question, Nolf s'adressa au sérum de cheval.

Il en sépara la globuline par saturation au sulfate de magnésie à 30° et filtration, l'albumine, en ajoutant 1 0/0 d'acide acétique au filtrat après refroidissement.

Après une dialyse de 8 jours dans l'eau chloroformée, les solutions de globuline et d'albumine sont injectées à des lapins, chaque lapin recevant 5 injections à 8 jours d'intervalle.

Nolf constata alors que, seul, le sérum des lapins injectés de la solution de globuline trouble et précipite le sérum du cheval. Il trouble également les solutions de globuline et laisse limpides les solutions d'albumine. Le sérum des lapins ayant reçu en injections la solution d'albumine ne trouble ni le sérum de cheval, ni les solutions de globuline, ni celles d'albumine. Nolf en concluait « que la réaction précipitante est la réponse de l'organisme à l'injection d'une catégorie bien déterminée de substances albuminoïdes du sang, que c'est la globuline seule qui la produit, à l'exclusion de l'albumine ».

Leblanc (4) reprit le procédé imaginé par Nolf. Il injecta à des lapins des solutions de globuline et des solutions d'albumine provenant du sang de vache.

Il précipitait les globulines par demi-saturation au sulfate ammonique, la sérine par saturation au moyen du même sel ; mais, au lieu d'injecter toutes les globulines comme le faisait Nolf, il injectait uniquement les pseudo-globulines, l'euglobuline étant précipitée par une dialyse prolongée. Les lapins recevaient environ 8 injections.

Il constata, comme Nolf, que le sérum des lapins ayant reçu des injections de globulines de vache provoque, dans le sérum de vache, un trouble manifeste après quelques minutes et un dépôt notable après quelques heures. Mais le sérum des lapins injectés d'albumine produisait, à l'inverse de ce que Nolf, après un petit nombre d'injections, il est vrai, avait constaté : un trouble et un précipité dans le sérum de vache, lesquels étaient même plus importants que ceux que donnait le sérum des lapins injectés de globuline. La spécificité de ces sérums précipitants quant à l'espèce animale était absolue. L'immun-sérum ne donnait aucun trouble, ni avec le sérum de cheval, ni avec ceux de mouton, de cochon, etc. La spécificité n'était pas moins nette vis-à-vis des différents protéides du sérum de vache : le sérum du lapin injecté de pseudo-globulines laissait parfaitement limpides les solutions d'albumines, tandis qu'il troublait énergiquement les solutions d'euglobulines.

Le sérum du lapin injecté d'albumines laissait parfaitement limpides les solutions de pseudo-globulines et troublait énergiquement les solutions d'albumines.

Si ce résultat était exact, on posséderait un procédé facile et

précis pour déceler la nature chimique des albuminoïdes en solution.

Aussi Leclainke et Vallée (5) tentèrent-ils d'appliquer ce procédé à la clinique, pour le diagnostic de la nature chimique des albuminoïdes de l'urine dans les néphrites. Ils injectèrent, pendant 3 mois, à des lapins une urine chargée de sérum. Le sérum de ces lapins précipite la sérine dans l'urine; il ne provoque aucun trouble dans les urines contenant de la globuline.

Linossier et Lemoine (6) reprirent l'étude de ces différents points. Ils constatèrent d'abord que la spécificité quant à l'espèce n'est pas absolue, mais la sensibilité de la réaction diffère : « Les précipités obtenus sont en général d'autant moins volumineux que l'animal dont on étudie le sérum est plus éloigné, dans l'échelle des êtres, de celui dont le sérum a servi à faire les injections. »

Ces deux auteurs (7) reprirent alors l'expérience fondamentale de Nolf, consistant à injecter séparément les divers albuminoïdes du sérum. Ils précipitèrent la globuline du sérum de cheval très légèrement acidifié par l'acide acétique en y ajoutant 6 parties d'une solution de sulfate ammonique. Le liquide, filtré, contenait la sérine. Après injections répétées à des lapins, ils constatèrent que le sérum des lapins ayant reçu de la sérine acquiert le pouvoir précipitant, mais à un degré bien moindre que le sérum des lapins ayant reçu des injections de globuline. L'action de ces sérums n'est pas spécifique; tous deux précipitent la globuline. Même, le sérum obtenu au moyen des injections de sérine précipite plus nettement la globuline que la sérine.

Michaélis (8), en injectant de la globuline seule, obtient une précipitine n'agissant que sur la globuline. En injectant de l'albumine, il obtient une précipitine agissant aussi bien sur la globuline que sur l'albumine.

Rostoski (9) sépare la globuline de l'albumine dans le sérum du cheval par demi-saturation au sulfate ammonique. Il ne constate non plus aucune spécificité quant à la nature chimique des albuminoïdes. Les lapins injectés de globuline ou d'albumine donnent un sérum qui précipite également bien tout les albuminoïdes du sérum de cheval.

Enfin, Umber (10) applique le même procédé aux albuminoïdes du blanc d'œuf. Il constate que les lapins injectés soit de

globulines, soit d'albumines de l'œuf, donnent un sérum qui précipite les solutions de globulines de l'œuf, mais qui ne trouble nullement les solutions d'ovalbumine.

Nous nous sommes demandé si les différences dans les résultats, suivant les expérimentateurs, n'étaient pas dues soit à l'origine des sérums employés (cheval ou vache), soit aux procédés chimiques utilisés pour séparer les globulines et les albumines, soit encore au nombre des injections, ou bien à la façon de chacun d'observer la réaction précipitante.

La question a bien son importance, puisque, d'une part, d'après Leblanc, on posséderait un moyen nouveau et très sensible pour distinguer les globulines des albumines; d'autre part, se basant sur la spécificité de la réaction précipitante vis-à-vis du sérum injecté, on se sert du procédé, en médecine légale, pour reconnaître le sang humain. Nous nous sommes adressés à du sérum de cheval et à du sérum de bœuf. Dans chacun d'eux, nous avons précipité les globulines et les albumines au moyen des procédés employés par Nolf et par Leblanc, les deux auteurs dont les résultats sont les plus différents.

A cet effet, la moitié du sérum de cheval dont nous disposions est saturée à 30°, au moyen de sulfate de magnésie. On filtre, le précipité est redissous dans l'eau distillée et reprécipité deux fois. Théoriquement, on obtient ainsi une globuline totalement exempte de sérine. Les albumines sont précipitées du filtrat en ajoutant 1 0/0 d'acide acétique après refroidissement et éloignement de l'excès de sulfate. Une moitié du sérum de bœuf est traitée de la même façon.

L'autre moitié du sérum de cheval, de même que celle du sérum de bœuf, est débarrassée des globulines par demi-saturation au sulfate ammonique. Le précipité est repris par l'eau distillée et reprécipité deux fois. Les albumines sont précipitées du filtrat par saturation au sulfate ammonique. Toutes ces opérations sont faites avec le plus grand soin.

Tous les précipités sont soumis à la dialyse dans l'eau chloroformée pendant 8 jours, additionnés de 1 0/0 de NaCl, et conservés sur une couche de chloroforme. La teneur en albuminoïdes est déterminée au polarimètre. 5 à 10 c. c. de ces solutions sont injectés à des lapins à 7 jours d'intervalle pendant 2 mois. Chaque lapin reçoit de la sorte 8 injections. Avant les

SÉRUM	SOLUTION de globulines de cheval préparées par $MgSO_4$.		SOLUTION de globulines de cheval préparées par demi-saturation $(NH_4)_2SO_4$.		SOLUTION d'albunines de cheval préparées par $MgSO_4$ + acétique.		SOLUTION d'albunines de cheval préparées par saturation $(NH_4)_2SO_4$.		SÉRUM de bœuf.	SOLUTION de globulines de bœuf.		SOLUTION d'albunines de bœuf.	
	Ap. 2 h. à l'étuve 37°.	Ap. 24 h. tempér. ordinaire.	Ap. 2 h. à l'étuve 37°.	Ap. 24 h. tempér. ordinaire.	Ap. 2 h. à l'étuve 37°.	Ap. 24 h. tempér. ordinaire.	Ap. 2 h. à l'étuve 37°.	Ap. 24 h. tempér. ordinaire.		Ap. 2 h. à l'étuve 37°.	Ap. 24 h. tempér. ordinaire.	Ap. 2 h. à l'étuve 37°.	Ap. 24 h. tempér. ordinaire.
Sérums lapins injectés de globulines de cheval préparées par saturation au $MgSO_4$	Trouble très intense.	Dépôt très abondant.	Trouble très intense.	Dépôt très abondant.	Trouble très léger.	Dépôt très faible.	Trouble très léger.	Dépôt très faible.	Trouble très léger.	Presque rien.	Presque rien.	Rien.	Rien.
Sérums lapins injectés de globulines de cheval préparées par demi-saturation au $(NH_4)_2SO_4$	Trouble très intense.	Dépôt très abondant.	Trouble très intense.	Dépôt très abondant.	Trouble très léger.	Dépôt très faible.	Trouble très léger.	Dépôt très faible.	Trouble très léger.	Rien.	Presque rien.	Rien.	Rien.
Sérums lapins injectés d'albunines de cheval préparées par $MgSO_4$ + ac. acétique.....	Trouble léger.	Dépôt faible.	Trouble peu intense.	Dépôt peu abondant.	Trouble peu intense.	Dépôt peu abondant.	Trouble peu intense.	Dépôt peu abondant.	Trouble peu intense.	Rien.	Presque rien.	Rien.	Rien.
Sérums lapins injectés d'albunines de cheval préparées par saturation au $(NH_4)_2SO_4$	Trouble intense.	Dépôt faible.	Trouble peu intense.	Dépôt peu abondant.	Trouble peu intense.	Dépôt peu abondant.	Trouble peu intense.	Dépôt peu abondant.	Trouble peu intense.	Rien.	Presque rien.	Rien.	Presque rien.

SÉRUM de bœuf.	SOLUTION de globulines de bœuf préparées par $MgSO_4$.		SOLUTION de globulines de bœuf préparées par demi-satura- tion $(NH_4)_2SO_4$.		SOLUTION d'albumines de bœuf préparées par $MgSO_4$ + ac. acétique.		SOLUTION d'albumines de bœuf préparées par saturation $(NH_4)_2SO_4$.		SÉRUM de cheval.	SOLUTION de globulines de cheval.		SOLUTION d'albumines de cheval.	
	Ap. 2 h. à l'écluse 37°.	Ap. 24 h. tempér. or- dinaire.	Ap. 2 h. à l'écluse 37°.	Ap. 24 h. tempér. or- dinaire.	Ap. 2 h. à l'écluse 37°.	Ap. 24 h. tempér. or- dinaire.	Ap. 2 h. à l'écluse 37°.	Ap. 24 h. tempér. or- dinaire.		Ap. 2 h. à l'écluse 37°.	Ap. 24 h. tempér. or- dinaire.	Ap. 2 h. à l'écluse 37°.	Ap. 24 h. tempér. or- dinaire.
Sérums lapins injectés de globulines de bœuf préparées par saturation au $MgSO_4$	Trouble très intense.	Dépôt très abondant.	Trouble très intense.	Dépôt très abondant.	Trouble très léger.	Dépôt très faible.	Trouble très léger.	Dépôt très faible.	Trouble très léger.	Rien.	Dépôt très faible.	Rien.	Rien.
Sérums lapins injectés de globulines de bœuf préparées par demi-saturation au $(NH_4)_2SO_4$	Trouble très intense.	Dépôt très abondant.	Trouble très intense.	Dépôt très abondant.	Trouble très léger.	Dépôt très faible.	Trouble très léger.	Dépôt très faible.	Trouble très léger.	Rien.	Dépôt très faible.	Rien.	Rien.
Sérums lapins injectés d'albumines de bœuf préparées par $MgSO_4$ + ac. acétique	Trouble peu intense.	Dépôt peu abondant.	Trouble peu intense.	Dépôt peu abondant.	Trouble peu intense.	Dépôt peu abondant.	Trouble peu intense.	Dépôt peu abondant.	Trouble assez intense.	Presque rien.	Presque rien.	Rien.	Presque rien.
Sérums lapins injectés d'albumines de bœuf préparées par saturation au $(NH_4)_2SO_4$	Trouble peu intense.	Dépôt peu abondant.	Trouble peu intense.	Dépôt peu abondant.	Trouble peu intense.	Dépôt peu abondant.	Trouble assez intense.	Dépôt assez abondant.	Presque rien.	Rien.	Rien.	Rien.	Rien.

injections, on a pris aseptiquement à chaque lapin environ 30 c. c. de sang dont on recueille les sérums pour servir de témoins.

Pour étudier la réaction précipitante, on mélange énergiquement, dans de très petits tubes à réaction, 1 volume de sérum de cheval ou de bœuf ou 1 volume des solutions de globulines ou d'albumines, à 2 volumes du sérum actif d'une part et à 2 volumes du sérum témoin d'autre part. Parfois, on observe avec le sérum actif un trouble au moment même du mélange; parfois, il ne se produit rien, le trouble ne survenant que plus tard. Quoi qu'il en soit, tous les tubes sont mis à l'étuve à 37° pendant 2 heures, puis examinés. On les laisse alors au repos pendant 24 heures à la température du laboratoire, puis on les observe de nouveau. Les sérums-témoins, dans ces conditions, ne produisent ni trouble ni précipité dans les sérums de bœuf et de cheval, ni dans les diverses solutions d'albuminoïdes.

Les résultats ont été très nets. Disons tout d'abord que, quelle que soit l'origine du sérum (cheval ou bœuf), quel que soit le mode de séparation des substances albuminoïdes, les résultats sont identiques. Nous les avons groupés dans le tableau ci-contre.

Le sérum des lapins injectés de globulines de cheval, ajouté, soit à des solutions de globulines de cheval, soit à du sérum de cheval, y détermine un trouble intense, qui se dépose en un précipité abondant. Ajouté à des solutions d'albumine de cheval, il y détermine un trouble à peine appréciable et un dépôt très faible. Ajouté à du sérum de bœuf ou à des solutions de globulines de bœuf, il produit après 24 heures un dépôt extrêmement faible; ajouté à de l'albumine de bœuf, il ne produit rien.

Le sérum des lapins injectés de globulines de bœuf se comporte de la même façon, c'est-à-dire précipite fortement les solutions de globulines et le sérum de bœuf, très faiblement les autres liqueurs.

Le sérum des lapins injectés d'albumine de cheval détermine un trouble et un précipité manifeste, mais peu abondants dans le sérum de cheval. Il détermine également un trouble peu abondant dans les solutions d'albumines du cheval et un trouble identique dans les solutions de globulines du cheval. Il ne produit qu'un dépôt extrêmement faible dans le sérum du bœuf et

dans les solutions de globulines provenant de ce sérum; il ne produit rien dans les solutions d'albumine.

Il en est de même pour le sérum des lapins injectés d'albumine de bœuf.

On constate, en outre, que non seulement le sérum des lapins ayant reçu des injections de globuline possède un pouvoir précipitant beaucoup plus intense que celui des lapins ayant reçu l'albumine, mais que ce pouvoir précipitant se produit après un nombre moins grand d'injections. C'est ainsi que Nolf a obtenu le pouvoir précipitant après 5 injections de globuline, alors que 6 injections d'albumine ne donnent encore aucun résultat.

D'autre part, nous avons déjà mentionné que le sérum des lapins ayant reçu de l'albumine précipite les solutions d'albumine, mais précipite aussi, et au même degré, les solutions de globuline.

En présence de ces faits, deux explications sont possibles : l'albumine injectée aux lapins donne à leur sérum un pouvoir précipitant faible, demandant pour se produire un grand nombre d'injections, tandis que les injections de globuline leur confèrent un pouvoir précipitant énergique et se produisant rapidement; ou bien — et c'est pour nous l'explication la plus vraisemblable — les procédés classiques employés pour séparer les globulines et les albumines dans le sérum ne sont pas parfaits, les solutions d'albumine que l'on injecte contiennent des traces de globulines, et ce sont ces dernières qui, après des injections nombreuses, finissent par conférer au sérum du lapin un pouvoir précipitant peu énergique, et s'exerçant aussi bien sur les solutions de globulines que sur les solutions d'albumines impures.

C'est en revenir à la conclusion de Nolf, qui attribue à la globuline seule la propriété de faire naître le pouvoir précipitant.

Dans tous les cas, il résulte des expériences précédentes que la réaction précipitante ne nous fournit pas un procédé permettant de différencier sûrement, dans des solutions, les globulines des albumines. Il en résulte encore, comme l'avait déjà constaté Linossier, que la spécificité, quant à l'espèce animale, n'est pas absolue, puisque le sérum des lapins injectés de globulines de cheval, par exemple, précipite, bien que très faiblement, le sérum du sang de bœuf.

BIBLIOGRAPHIE

1. BORDET, Agglutination et dissolution des hématies, *Annales Pasteur*, 1899.
 2. TCHISTOVITCH, Etude sur l'immunisation par le sérum d'anguilles, *Annales Pasteur*, 1899.
 3. NOLF, Contribution à l'étude des sérums antihématiques, *Annales Pasteur*.
 4. LEBLANC, Contribution à l'étude de l'immunité acquise, *La Cellule*, t. XVIII.
 5. LECLAINCHE ET VALLÉE, Note sur les anticorps albumineux, *Comptes rendus Soc. Biologie*, 1901, p. 51.
 6. LINOSSIER ET LEMOINE, Sur les substances précipitantes des albumines (précipitines) contenues dans certains sérums spécifiques, *Comptes rendus S. de Biologie*, 1902.
 7. LINOSSIER ET LEMOINE, Sur la spécificité des sérums précipitants, *idem*, p. 369.
 8. MICHAELIS, *Verhandlungen des Vereins für innere Medizin*, 24 mars 1902.
 9. ROSTOSKI, Ueber den Werth der Präcipitine als Unterscheidungsmittel für Eiweisskörper, *Muenchen. medicin. Wochenschrift*, 1902.
 10. UMBER, Zur Chemie und Biologie der Eiweisskörper, *Berlin. Klin. Wochens.*, 1902, p. 657.
-

ÉTUDES SUR LA PESTE

RECHERCHES

Sur la durée de la présence du microbe de la peste

Injecté vivant dans les veines du cheval

PAR CAROUGEAU, VÉTÉRINAIRE (INSTITUT PASTEUR DE NHA-TRANG, ANNAM)

(Travail de l'Institut Bactériologique de Nha-Trang, Annam.)

Le sérum antipesteux est fourni par des chevaux immunisés contre le bacille de la peste.

Les recherches faites à l'Institut Pasteur de Paris, sous la direction de M. Roux, ont montré que le cheval est très sensible au virus pesteux, qu'il est facilement tué par de faibles doses, mais aussi qu'il peut être progressivement immunisé et amené à supporter des quantités de virus qui égalent plusieurs centaines de fois la dose primitivement mortelle.

Il a été établi en même temps que l'on obtient un sérum antipesteux plus actif, quand on injecte aux producteurs des microbes vivants et virulents.

Les bacilles sont détruits dans le sang (phagocytés), et le résultat de la réaction de l'organisme est la production de substances qui donnent à son sérum des propriétés nouvelles, préventives, et curatives vis-à-vis de l'infection pesteuse.

Il était intéressant de rechercher expérimentalement combien de temps les microbes ainsi injectés restent vivants dans le sang et s'ils sont atténués avant de disparaître.

Chargé depuis deux ans de la préparation du sérum antipesteux à l'Institut Pasteur de Nha-Trang, cette question avait pour moi un intérêt particulier.

Les chevaux producteurs de sérum ne peuvent être entretenus en permanence à Nha-Trang, le laboratoire étant situé au

bord de la mer, sur une dune de sable privée de tout pâturage.

Ils doivent être renvoyés après chaque inoculation dans une plantation annexe, située à 18 kilomètres, où ils trouvent en assez grande abondance l'herbe qui leur est indispensable.

Il était donc important de savoir si ces animaux peuvent être dangereux après avoir reçu le bacille de la peste, pendant combien de temps leur sang contient ce microbe vivant et virulent.

Ces recherches me permettaient de déterminer la durée minima du séjour de mes animaux à Nha-Trang.

Elles me permettront aussi de répondre aux détracteurs du sérum antipesteux qui ont prétendu que ce liquide pouvait donner une peste atténuée¹.

Mes expériences ont été faites sur des chevaux immunisés depuis longtemps, c'est-à-dire pouvant supporter des doses énormes du microbe de la peste.

Il est impossible de faire ces recherches sur des animaux neufs : ceux-ci, très sensibles au poison pesteux, sont tués par des doses très faibles de bacilles vivants².

Mais lorsqu'un cheval a reçu pendant un temps assez long (plusieurs mois) des doses progressivement croissantes de culture, il ne présente plus, même à la suite d'injections considérables, de réaction sensible. Il semblerait donc que les animaux amenés à ce degré d'immunité ont acquis le pouvoir de fixer et de détruire rapidement le microbe et sa toxine. Nous verrons que l'expérience prouve le contraire.

1. Voir en particulier à ce sujet l'article du Dr Leroux (*Gazette hebdomadaire*, 1901, p. 1172), sur les accidents consécutifs aux injections de sérum anti-pesteux faites aux passagers du *Sénégal* pendant leur séjour au Frioul. Dans un cas unique, sur 133 injectés, un médecin observa sur sa femme, après une injection de 7 c. c. de sérum antipesteux sous la peau du flanc droit : douleur de la fosse iliaque, traînées de lymphangite, gonflement considérable d'un ganglion inguinal, fièvre, faiblesse générale, prostration, etc., etc... Ce médecin attribue ces accidents non à une infection par une aiguille ou une seringue mal aseptisées, mais au sérum qui aurait donné une peste atténuée!... Cette conclusion est d'autant plus extraordinaire que le sérum anti-pesteux avait subi trois chauffages à 58°.

2. Exemple : Un cheval australien de 1^m.56, âgé de 14 ans environ, reçoit à 6 heures du matin dans la jugulaire le raclage de 2 tubes de culture de peste sur gélose ; sa réaction est vive : à 11 heures sa température est de 40,01, il est très abattu, refuse de manger : à 5 heures du soir T. 40.08. L'abattement et la fièvre persistent le lendemain ; pendant la journée l'animal reste couché, il est comateux à 6 heures du soir et meurt dans la nuit.

Des prises de sang faites à la jugulaire permettent de retrouver le microbe de la peste, virulent pour le rat.

Le cadavre est brûlé sans avoir été ouvert.

Avant d'entrer dans le détail de ces recherches il est indispensable de donner les caractères du microbe utilisé.

Caractères du bacille.

Il provient de l'épidémie de peste de Nha-Trang, 1898.

Depuis cette époque il a été conservé en cultures, successives sur gélose.

Les repiquages sont faits assez régulièrement, au moins une fois par semaine.

Peu à peu, ce bacille pesteux s'est habitué à la gélose, il y pousse très rapidement à la température ambiante, qui varie de 26 à 32°.

Au bout de 24 heures les colonies apparaissent, très visibles, en un fin pointillé bleuâtre qui augmente jusqu'à former des colonies assez épaisses, blanchâtres, translucides, sans tendance à s'étendre. A la température ordinaire, les cultures se font mieux qu'à l'étuve à 37-38°.

Les températures élevées, 42-44°, retardent la pullulation des bacilles pesteux.

Ces températures sont dysgénésiques : il semble que les microbes les moins virulents sont tués, et que les colonies qui se forment sont entièrement constituées par les bacilles dont la vitalité, par conséquent la virulence, est la plus grande.

La culture à températures élevées est donc un moyen de faire une sélection et conserver des cultures virulentes.

On constate que des cultures sur gélose abandonnées à l'air s'affaiblissent peu à peu, mais tous les microbes qui constituent une culture ne subissent pas également l'action atténuante du vieillissement.

Ceux qui se trouvent dans les couches profondes gardent plus longtemps leur activité, car ils sont préservés de l'action oxydante de l'air par des couches superficielles.

Aussi, quand on réensemence une culture âgée sur un milieu neuf, on obtient une culture jeune, composée en proportion variable de microbes virulents et de microbes atténués.

Le chauffage à 44° permet d'éliminer tous les microorganismes atténués, de sélectionner des colonies virulentes et d'obtenir une abondante culture de bacilles très actifs.

Exemple : Une culture ancienne de peste, âgée de 6 mois

environ, est repiquée largement sur deux séries de tubes de gélose.

Les uns sont placés à la T. ordinaire de la chambre, ils donnent, en 24 heures, des colonies abondantes, transparentes, caractéristiques, couvrant toute la surface qui a été touchée par le fil de platine.

Les autres, mis dans l'étuve réglée à 44°, ne montrent au bout de 24 heures que de rares et fines colonies, 2, 3, 5 par tube.

Ces colonies, repiquées sur de la gélose neuve qui est aussi placée dans l'étuve à 44°, fournissent en 24 heures des cultures plus abondantes après 3 passages; les cultures à 44° sont en 24 heures presque aussi belles que celles de la première série aites à la T. ordinaire,

Une inoculation d'épreuve montre la différence d'activité des deux séries de cultures.

1^{re} Série : 4 rats inoculés par piqûre sous-cutanée meurent en 54, 108, 120, 134 heures.

2^e Série : 4 rats inoculés par la même méthode meurent en moins de 48, 50, 54 et 72 heures.

La différence est évidente.

Les rats de la première série ont reçu des microbes virulents en petit nombre, dilués qu'ils étaient par des germes peu actifs.

Ceux de la seconde n'ont reçu que des germes très virulents.

Cette expérience répétée à dix reprises différentes a toujours donné les mêmes résultats.

C'est à l'aide de ce procédé que je puis conserver un virus sensiblement fixé, tuant le rat, par piqûre sous-cutanée, en 48 à 60 heures. Ce microbe sert pour les injections chez les chevaux producteurs de sérum.

Production du sérum antipesteux.

Des cultures sont faites sur gélose dans les boîtes modèle de M. Roux.

Au bout de 48 heures, à la température ordinaire, elles sont abondantes.

Un de leurs caractères constant est d'avoir avec la gélose une *très faible adhérence*.

Si l'on introduit dans la boîte quelques centimètres cubes d'eau stérilisée, les colonies microbiennes se détachent et flottent comme un voile à la surface du liquide.

Quelques mouvements brisent ce voile et la dilution ainsi opérée est filtrée sur du coton, stérilisée, puis injectée.

Il me semble inutile d'entrer dans les détails de la technique de ces injections, extrêmement faciles, mais auxquelles il faut apporter quelque attention pour éviter de contaminer ses aides ou soi-même.

Chaque cheval immunisé contre la peste reçoit, avant d'être saigné, 4 injections consécutives à une semaine d'intervalle et correspondant à des doses progressivement croissantes de $1/4$, $1/2$, $3/4$ et une boîte de culture sur gélose.

Les chevaux sont saignés dans la quinzaine qui suit la dernière injection.

Ils sont ensuite mis au repos pendant un mois et peuvent recevoir à nouveau du virus.

Recherche des bacilles pesteux.

J'ai procédé à la recherche des microbes dans le sang après l'injection de la quatrième semaine, c'est-à-dire la plus considérable.

J'ai fait des prises de sang à des intervalles de plus en plus éloignés de l'heure de l'injection, puis, j'ai recherché dans ce sang le bacille pesteux par l'examen microscopique, l'inoculation au rat, les cultures.

PRISES DE SANG. — Elles ont été faites dans la jugulaire opposée à celle qui avait reçu l'injection, après avoir fixé convenablement le cheval, rasé les poils et désinfecté la peau.

La jugulaire est ponctionnée avec une grosse aiguille d'injecteur et le sang recueilli dans un tube à essai renfermant 1 à 2 c. c. de solution de citrate de soude, pour empêcher la coagulation du sang.

L'examen microscopique est un moyen défectueux pour la recherche des microbes dans le sang, il ne donne que des résultats incertains, les microbes étant trop rapidement dilués.

Pour les mettre en évidence, il faut employer l'inoculation

au rat ou la culture en bouillon ou sur plaque de gélose.

Peu de temps après l'injection, les bacilles pesteux, uniformément répartis dans la circulation générale, sont très abondants.

La moindre goutte de sang en contient.

Expérience. — Cheval n° 34.

Il reçoit dans la jugulaire gauche une culture sur gélose, diluée dans 20 c. c. d'eau stérilisée.

Au bout de 3 minutes, une prise de sang est faite dans la jugulaire droite, 10 tubes de gélose sont ensemencés aussitôt, chacun avec une anse de sang.

Les tubes, examinés après plusieurs jours, montrent des colonies dans tous les points touchés par le fil de platine; c'est de la peste pure. 4 rats inoculés avec 1/2 c. c. du sang recueilli 3 minutes après l'injection meurent de peste.

Peu à peu les microbes deviennent moins nombreux.

Au bout de 10 minutes, 2^e prise de sang; sur 10 tubes ensemencés avec une anse de sang, 7 seulement ont montré quelques colonies de peste.

Après 15 minutes, sur 10 tubes 3 seulement ont développé chacun 2 colonies de peste.

Après 30 minutes, sur 10 tubes aucun n'a fourni de culture.

Pourtant il existe encore dans le sang des bacilles libres et vivants, car des rats inoculés avec 1/2 c. c. sont morts de peste.

Autre expérience. — Cheval n° 75.

Il reçoit dans la jugulaire droite une culture sur gélose, diluée dans 20 c. c. d'eau stérilisée.

Les prises de sang sont faites à la jugulaire gauche après :

10 minutes : 10 tubes de gélose sont ensemencés avec une anse de sang; tous cultivent.

10 rats inoculés chacun avec 1/2 c. c. de sang; tous meurent de peste en 3 à 7 jours.

16 minutes : sur 10 tubes, 5 cultivent.

10 rats reçoivent 1/2 c. c. de sang et meurent en 3 à 9 jours.

30 minutes : sur 10 tubes, aucune culture.

Sur 10 rats inoculés avec 1/2 c. c. de sang, 2 meurent au bout de 4 jours, 2 en 6 jours, les autres ne sont pas morts.

Autre expérience. — Cheval n° 25.

Il reçoit à droite une boîte de culture sur gélose.

Prises de sang à gauche au bout de :

10 minutes : 6 tubes de géloseensemencés avec une goutte de sang, 7 jours après tous ont de petites colonies de peste pure, 7 rats inoculés sous la peau avec 1 c. c. de sang meurent de peste en 3, 5, 6 et 7 jours. 6 tubes de géloseensemencés avec 4 gouttes de sang chacun : au bout de 7 jours, 4 tubes ont donné de petites colonies de peste pure. 6 rats sont inoculés, l'un meurt en 4 jours; le 2^e en 5; les autres résistent.

Expérience. — Jument n^o 84.

Inoculation : une boîte de culture à droite.

Prise de sang : 1 heure après dans la jugulaire gauche ;

4 rats inoculés avec 1/2 c. c. de sang meurent de peste en 6 jours. 4 tubes de géloseensemencés avec 3 gouttes de sang, au bout de 7 jours, 1 seul a présenté des petites colonies qui, repiquées et inoculées au rat, lui ont donné la peste mortelle.

Expérience. — Cheval n^o 4.

Injection : une boîte de culture à droite.

Prise de sang à gauche, 1 heure 1/2 après.

Deux boîtes de gélose et deux ballons sontensemencés avec 10 c. c. de sang : il se développe d'abondantes cultures, qui, inoculées à 2 rats, les tuent en 72 et 80 heures.

Des témoins inoculés avec la culture primitive sont morts en 72 heures.

Ces expériences démontrent que les bacilles pesteux, très nombreux dans le sang immédiatement après l'inoculation, se raréfient rapidement, pourtant il en reste encore de vivants après 1 heure 1/2.

L'expérience suivante va nous montrer qu'on peut en retrouver à un moment encore plus éloigné de l'inoculation, mais ils doivent être recherchés dans une plus grande quantité de sang.

Expérience. — 3 chevaux, n^{os} 4, 46, 47, reçoivent chacun une boîte de culture sur gélose ; ils sont saignés 2, 4, 6, 7 et 10 heures après l'inoculation, desensemencements avec 2, 5 et 10 c. c. de sang sont faits sur boîte de gélose et dans des ballons de bouillon.

Le tableau suivant donne les résultats de l'expérience :

ENSEMENCEMENTS SUR BOITE DE GELOSE									
QUANTITÉ le sang ensemencé	Cheval n° 4.			Cheval n° 46.			Cheval n° 47.		
	2 c. c.	5 c. c.	10 c. c.	2 c. c.	5 c. c.	10 c. c.	2 c. c.	5 c. c.	10 c. c.
2 ^h	Cultures.	Cultures.	Cultures.	Cultures.	Cultures.	Cultures.	Cultures.	Cultures.	Cultures.
3	Cult.	Cult.	Cult.	Cult.	Cult.	Cult.	Cult.	Cult.	Cult.
4	Pas de cultures.	Pas de cultures.	Cult.	O	Cult.		Quelq. co- lonies.		
5	Pas de cultures.	Quelq. co- lonies.	Pas de cultures.						
6									
7									
10 ^h									
ENSEMENCEMENTS EN BALLON DE BOUILLON									
QUANTITÉ le sang ensemencé	Cheval n° 4.			Cheval n° 46.			Cheval n° 47.		
	2 c. c.	5 c. c.	10 c. c.	2 c. c.	5 c. c.	10 c. c.	2 c. c.	5 c. c.	10 c. c.
2 ^h	Cultures.	Cultures.	Cultures.	Cultures.	Cultures.	Cultures.	Cultures.	Cultures.	Cultures.
3	Cult.	Cult.	Cult.	Cult.	Cult.	Cult.	Cult.	Cult.	Cult.
4	Pas de cultures.	Pas de cultures.	Cultures.	Pas de cultures.	Cultures.				
5									
6									
7									
10 ^h									

Ainsi, 40 heures après l'inoculation il peut encore exister des microbes vivants.

Ces bacilles sont virulents comme le montrent des inoculations faites avec le repiquage des cultures de 10 heures des chevaux n° 46 et 47.

Le 19 mai 1902 à 8 heures du matin : 5 rats sont inoculés avec la culture du cheval n° 46 (10 heures) ; ils meurent ; 1 le 22 mai à 7 heures, 3 le 23 dans la journée, 1 le 24.

5 rats inoculés avec la culture du cheval n° 47 (10 heures) meurent : 1 le 22 mai dans la nuit, 2 le 23, 1 le 24 et 1 le 25.

Deux témoins sont morts en 75 et 94 heures.

Tous ces rats ont montré le bacille de la peste à l'autopsie.

Plus on s'éloigne de l'heure de l'inoculation, plus les microbes se raréfient, aussi les résultats obtenus par l'injection sous-cutanée de sang au rat sont-ils de plus en plus incertains.

Ainsi après 10 heures, les rats ne succombent plus à des doses de $1/2$, $2/3$, 1 c. c. de sang.

Remarque intéressante, ils ne sont pas immunisés, car inoculés au bout d'une semaine, avec une culture virulente, ils meurent aussi vite que des témoins.

Les propriétés préventives n'apparaissent donc pas aussitôt après l'injection du virus.

Expérience. — Cheval n° 4.

Inoculation : une boîte de culture.

Saignée : 14 heures après.

Ensemencement avec 10 c. c. de sang de 1 boîte gélose et 1 ballon bouillon.

Il n'y a eu de culture.

5 rats inoculés avec 2 c. c. de sang résistent ; 8 jours plus tard ils reçoivent, ainsi que 2 témoins, une culture virulente âgée de 48 heures.

Les témoins meurent en 3 et 4 jours ; les autres, 2 en 3 jours, 2 en 4 jours, 1 en 5 jours. A l'autopsie, le sang du cœur a donné pour tous des cultures de peste.

Cette expérience pourrait faire penser qu'après 14 heures il n'y a plus de microbes libres et vivants dans le sang.

Des recherches faites à une époque plus éloignée de l'inoculation ont montré des variations suivant les individus et suivant la dose injectée.

Un cheval n° 83 reçoit 4 boîtes de culture sur gélose, diluées dans 100 c. c. d'eau stérilisée.

Des saignées faites 20 et 40 heures après l'inoculation ont fourni des cultures de peste.

Chez certains chevaux, qui ont reçu seulement 1 boîte de culture, on retrouve encore, mais non d'une manière constante, des microbes 40 heures après l'inoculation.

Il semble que ce soit la limite.

Au delà de 40 heures, à 45 à 48 heures, je n'ai jamais retrouvé de bacille.

Je donne comme type des recherches à 40 heures les 2 expériences suivantes :

Chevaux n° 4 et n° 12.

Inoculations : 1 boîte de culture sur gélose.

Saignées : 40 heures après l'inoculation.

Ensemencements : 2 ballons bouillon chacun avec 10 c. c. de sang.

Au bout de quelques jours des cultures se sont développées, répiquées sur gélose, elles montrent les caractères de la peste.

8 rats inoculés par piqûre sous-cutanée avec un repiquage de 48 heures de chacune de ces cultures meurent tous : 5 en moins de 60 heures, 3 en moins de 72 heures.

L'examen microscopique du sang du cœur a montré le bacille en abondance.

Des témoins inoculés avec un repiquage de 48 heures de la culture qui avait servi à l'injection des chevaux n°s 4 et 12 sont morts en un temps plus long, 72, 80, 96 heures.

Il est remarquable que le microbe ainsi extrait de l'organisme du cheval reste virulent.

Il semblerait même que sa virulence ait augmenté. En réalité il n'y a pas eu augmentation de la virulence. Le résultat est tout à fait comparable à celui de la culture à haute température. Les microbes les moins virulents sont détruits les premiers par la phagocytose et ceux qu'on retrouve longtemps après l'inoculation sont les plus résistants, les plus virulents.

Quand le temps écoulé depuis inoculation dépasse 40 heures, les bacilles de la peste disparaissent définitivement de la circulation ou se raréfient tellement qu'on ne peut plus les mettre en évidence.

Après 45, 47, 48 heures, je n'en ai jamais retrouvé.

Expérience : chevaux n^{os} 4, 12, 13, 24, 85.

Injections : chacun 1 boîte de culture sur gélose.

Saignées : 48 heures après l'inoculation.

On ensemence 20 c. c. de sang de chaque cheval dans des ballons de bouillon (1/2 litre).

Deux seuls cultivent; le microbe qui s'est développé n'est pas le bacille de la peste.

Une observation générale s'applique à toutes ces expériences, la détermination des microbes obtenus par la culture doit être faite minutieusement (par examen microscopique, réaction de Gram, inoculation au rat).

C'est qu'en effet, l'inoculation d'une forte dose de culture de peste affaiblit le pouvoir bactéricide du sang et favorise la pénétration dans la circulation de microbes étrangers, probablement d'origine intestinale. C'est une cause d'erreur à éviter.

CONCLUSIONS

I. La culture à température élevée, le passage par l'organisme du cheval des bacilles de la peste opèrent une véritable sélection des microbes virulents, les germes peu virulents étant détruits les premiers par la chaleur ou par les phagocytes.

II. 48 heures après l'inoculation intra-veineuse d'une boîte de culture sur gélose, tous les bacilles pesteux ont disparu de la circulation.

III. Le sérum obtenu 13 jours après la dernière inoculation de microbes vivants ne peut donner donc la peste même lorsqu'il est injecté à grandes doses.

NOTA. — Toutes ces expériences ont été faites sur des chevaux de race annamite, de petite taille, 1^m,22 en moyenne, âgés d'au moins 5 ans.

DE L'INFLUENCE DE L'OXYGÈNE Sur la Protéolyse en présence de chloroforme

PAR G. MALFITANO

On sait que le chloroforme détermine, ou tout au moins favorise l'autoprotéolyse. Certaines cellules microbiennes, les éléments de certains tissus, ou des matières provenant d'un organisme exposé à l'action de ce réactif, subissent des modifications consistant dans la décoagulation et la désintégration des matières protéiques qui les composent.

Dans les conditions particulièrement favorables qu'on réalise en mettant la matière organisée en suspension dans l'eau chloroformée, on peut parfois suivre la marche de cette autodigestion et mettre en évidence l'agent de nature diastasique¹. Le chloroforme, ainsi que d'autres antiseptiques, le toluol, le xylol, le phénol, le thymol et l'alcool faible, ne doivent agir qu'indirectement en créant les conditions favorables à l'autolyse. Par contre d'autres antiseptiques, le sublimé, le fluorure de sodium, le formol, etc., agissent en fixateurs.

Or le chloroforme, qui est très favorable à l'autoprotéolyse, l'empêche dans certains cas, en absence de l'oxygène.

EXPÉRIENCE I. — On prépare une émulsion de *bactéridies* charbonneuses en raclant une culture, en surface, sur gélose, âgée de 18 à 24 heures, et en délayant les corps microbiens dans 20 c. c. d'eau physiologique, et l'on distribue cette émulsion dans quatre tubes.

Toute l'opération est faite aseptiquement.

Le tube A, simplement bouché avec un tampon d'ouate, est placé à la température de 40°. Déjà au bout d'une demi-heure, la bactériolyse se manifeste, elle est assez avancée après 2 heures; à ce moment, une grande partie des cellules sont désagrégées; et les autres apparaissent en forme de chapelets dans les préparations colorées.

1. La bactériolyse de la bactérie charbonneuse. *Comptes rendus de l'Ac. des Sciences*. T. CXXXI, p. 295.

Le tube B est scellé à la lampe, après qu'on l'a vidé d'air au moyen de la trompe. Les autres conditions étant égales d'ailleurs, la bactériolyse se manifeste un peu plus rapidement que dans le tube A.

Le tube C, bouché simplement à la ouate, reçoit une goutte de chloroforme. Après l'avoir agité, ce tube est placé dans les mêmes conditions que les précédents. La bactériolyse est, dans ce cas, particulièrement intense et rapide. Il ne reste plus dans ce tube, après 2 heures d'étuve, qu'un faible dépôt de débris informes.

Le tube D reçoit aussi une goutte de chloroforme, et il est scellé après extraction de l'air.

Le processus de bactériolyse ne se manifeste pas dans ce tube. Les cellules s'agglutinent à la longue, mais elles ne s'émiettent pas, et, bien que leur matière ait dû subir de faibles modifications qu'on remarque après coloration, elles restent intactes après des mois.

Cette expérience, répétée maintes fois, a donné toujours le même résultat, à la seule condition qu'on opère avec des cellules jeunes. Elle peut être réalisée avec les différentes races de bactériodites, qui, comme on sait, se bactériolysent plus ou moins vite. Le résultat ne change pas si, au lieu de faire le vide, l'on remplace dans le tube l'air par de l'hydrogène. D'autre part, le phénomène n'est pas le même avec les autres antiseptiques connus comme favorables à l'autolyse. Les essais que j'ai faits en me servant de xylol, toluol, phénol, thymol, cyanure de potassium, ont montré que l'absence de l'oxygène ne change pas l'action de ces réactifs sur les cellules.

J'ai recherché si la présence de l'oxygène était aussi nécessaire pour les autres digestions opérées en présence de chloroforme.

EXPÉRIENCE II. — On prend 4 grammes de fibrine de chien toute fraîche et non lavée qu'on partage en deux portions égales. Chacune de ces deux portions est mise en suspension dans 50 c. c. d'eau physiologique, additionnée d'un excès de chloroforme.

La portion A est contenue dans un petit ballon bouché avec de la ouate, qu'on maintient à 40° en l'agitant de temps en temps.

Après 24 heures déjà, les flocons de fibrine sont finement émiettés et au bout de 48 heures, il ne reste qu'un dépôt très fin et très léger.

La portion B est contenue dans un petit ballon qu'on a scellé après l'avoir vidé d'air. La fibrine, dans ce cas, reste en gros flocons, et le liquide se trouble fortement.

Après une semaine, on jette sur deux filtres tarés le contenu de chaque ballon. La portion A filtre très facilement et laisse un résidu qui, pesé sec, ne dépasse pas 0 gr, 007. La portion B filtre très lentement, et les flocons de fibrine restants, pesés à l'état sec, donnent 0 gr, 115.

J'ai répété l'expérience plusieurs fois; en opérant avec la même fibrine de l'expérience précédente, qu'on avait gardée 36 heures à la glacière, le résultat a été moins net. La différence n'était pas bien saisissable, non plus, quand j'ai opéré avec de la fibrine de porc apportée de l'abattoir.

La nécessité de la présence de l'oxygène, pour mettre en train la digestion chloroformique de la fibrine, est très manifeste. Des expériences que j'ai faites sur l'autodigestion de la muqueuse stomacale et, en général sur des digestions opérées par la pepsine, il résulte d'une manière assez nette, que le chloroforme affaiblit considérablement la diastase et que, dans ces cas, l'absence de l'oxygène ne modifie pas la marche de la digestion. Il en est différemment pour le suc pancréatique.

EXPÉRIENCE III. — On prépare un mélange à parties égales de suc pancréatique inactif recueilli purement et de suc intestinal filtré; on en fait quatre échantillons pareils dans des tubes à essai, où l'on introduit des petits cubes d'albumine d'œuf stériles, et on les porte à l'étuve à 40°.

Le tube A est bouché avec de l'ouate; au bout de 18 heures, le cube d'albumine est presque complètement dissous, le liquide est clair.

Le tube B est scellé, vide d'air: la dissolution du cube d'albumine se fait dans les mêmes conditions que dans l'échantillon A.

Le tube C reçoit une goutte de chloroforme. Toutes choses étant égales d'ailleurs, la dissolution du cube d'albumine est plus lente et moins complète.

Le tube D est scellé, vide d'air, après addition d'une goutte

de chloroforme. Au bout du même temps le cube d'albumine est intact et seulement devenu plus transparent aux arêtes; après une semaine, il présente des crevasses : il s'est en partie désagrégé, mais la matière solide ne paraît pas diminuée.

J'ai répété l'expérience seulement précédente, en plaçant à l'étuve à 40° les quatre échantillons de suc pancréatique, sans les mettre en présence de la matière à digérer; après 10 heures je les ai retirés, j'ai ajouté à chaque essai un petit cube d'albumine et je les ai portés à l'étuve, tous étant dans les mêmes conditions, bouchés simplement avec de la ouate. Au bout de 24 heures, le résultat était analogue à celui de l'expérience III.

Des expériences que j'ai faites en opérant avec le suc pancréatique, il apparaît très manifestement que le chloroforme affaiblit la diastase, et que cette action nuisible est plus intense en l'absence de l'oxygène.

Dans les milieux albuminoïdes où se trouvent des protéases, ont lieu des phénomènes de coagulation et de décoagulation (selon les cas) et, souvent en même temps. Ces deux processus paraissent antagonistes, mais leurs agents n'ont pas été jusqu'à présent séparés, et leur mécanisme est encore fort obscur.

L'étude de l'influence du chloroforme dans des conditions variées sur les diastases d'une part, et sur la matière albuminoïde de l'autre, permettra, je crois, de pénétrer un peu la nature de ces phénomènes, et je me propose d'exposer dans une prochaine note les observations recueillies à ce propos.

(Je remercie MM. Delezenne et Frouin de m'avoir fourni les matériaux physiologiques employés dans cette étude.)

L'ALCOOL EST-IL UN ALIMENT?

REVUE CRITIQUE

ATWATER, WOODS et BENEDICT, Sur le métabolisme de l'azote et du carbone dans l'organisme, avec un calorimètre à respiration humaine d'une construction spéciale, *Office of Exper. Stations of the U. S. Depart of. agriculture*, n° 44. — ATWATER et ROSA, Description d'un nouveau calorimètre et expériences sur la conservation de l'énergie dans le corps humain, *id.*, n° 63. — ATWATER, BENEDICT, avec la coopération de MM. SMITH et BRYANT, Expériences sur le métabolisme de la matière et de l'énergie dans le corps humain, *id.*, n° 69. — ATWATER et BENEDICT, avec la coopération de MM. BRYANT, SMITH et SNEEL, Nouvelles études sur le même sujet, *id.*, n° 109. — ATWATER et BENEDICT, Étude expérimentale concernant la valeur nutritive de l'alcool, *Mémoires de l'Académie nationale des sciences*, t. VIII, Washington, 1902.

L'alcool est-il un aliment, traversant le canal intestinal au même titre que la viande et le pain, et faut-il alors le traiter en ami, ou bien est-il un ennemi, qui blesse toutes les cellules qu'il touche, et que nous devons craindre et repousser? Voilà évidemment une grosse question, qu'on pourrait croire étudiée et, sinon résolue, poussée au moins au même degré que pour les substances notoirement alimentaires. Quand on cherche dans cette direction, on s'aperçoit que l'alcool a été totalement négligé. On ne sait ce qu'il vaut comme aliment. Il est vrai, qu'il y a, avec lui, des difficultés plus grandes qu'avec les autres. Il est volatil, et une partie de celui qui est ingéré s'en va par évaporation¹. De plus, ces expériences sur la valeur alimentaire se font surtout sur les animaux, dont aucun précisément ne boit de l'alcool. Bref, cette étude a été délaissée, et la solution, si importante qu'elle soit, est restée dans le domaine des solutions instinctives, celles qui se paient le plus facilement de mauvaises raisons.

En ce moment, par exemple, l'alcool, si longtemps prôné, n'a pas pour lui l'opinion publique : c'est un poison, qui n'a de place que dans les pharmacies, tel est le cri général. Les physiologistes lui sont, en général, indifférents ou hostiles. Les microbiologistes ont aussi tendance à le condamner, en se disant que, dans toutes les fermentations où ils le rencontrent, dans la fermentation alcoolique surtout, l'alcool a un caractère de produit résiduaire, de *caput mortuum*, qu'il a fallu toute la malice de l'homme pour apprendre à aimer. Tout cela a contribué à donner à l'alcool une place à part, peu enviable.

Heureusement, un procès de revision a commencé, il y a quatre ou cinq ans. Au lieu de conclure contre l'alcool de ce qu'on le rencontre si souvent comme produit et résidu d'action microbienne, on commence à voir qu'il s'en forme partout, qu'il s'en consomme partout, et que n'en laissent que ceux qui en fabriquent plus qu'ils n'en

1. Cette part est beaucoup plus faible qu'on ne le supposait. Elle ne dépasse pas 2 à 2,5 0/0 d'après M. Atwater.

peuvent consommer. Voilà pour les microbiologistes. Quant aux physiologistes, un mémoire tout récent, inséré en 1902 dans les *Mémoires de l'Académie nationale des sciences des États-Unis*, permet de dire aujourd'hui que non seulement l'alcool n'est pas un poison, mais qu'il doit être placé à côté de l'amidon et du sucre, qu'il dépasse même par sa valeur alimentaire, car, à poids égal, il contient plus d'énergie. C'est un changement complet de point de vue au sujet de l'homme, et, pour les animaux, le moment approche où l'alcool entrera dans tous les tableaux de rations alimentaires.

Le travail, qui a ainsi changé nos idées, est le fruit d'une collaboration curieuse. A l'origine, nous trouvons un *Comité de 50 personnes pour les recherches sur les boissons*, créé par la *Wesleyan University*; en cours de route, ce comité a rencontré une Commission qui avait un objet similaire, celui de l'étude alimentaire des animaux, et qui avait été nommée par le ministre de l'Agriculture.

La question de l'alcool préoccupait tout le monde, parce qu'elle n'est pas exclusivement scientifique. Elle a son côté moral, elle a son côté économique. On ne savait pas ce qu'elle donnerait, mais on voulait la traiter à fond. L'accord entre toutes ces bonnes volontés tendant dans le même sens fut vite conclu. La *Wesleyan University* et le *Comité de cinquante*, qui étaient arrivés les premiers et avaient un laboratoire, conservèrent la direction. Pour l'argent, on réunit ses ressources, que vinrent augmenter de grosses souscriptions. Bref, le problème fut attaqué comme un gros problème, exigeant de grandes dépenses et un nombreux personnel. Les choses ont bien marché depuis. Les premières publications ont été des communications faites par MM. Atwater et Benedict en 1897, les signataires du dernier mémoire qui clôt pour le moment la question. Tout semble avoir été harmonieux et heureux dans l'affaire.

*
* *

Ce déploiement de forces s'explique : c'est la première fois qu'on a tenu compte, pour les mesures, de tout ce que peut donner et de ce que donne l'aliment comburé physiologiquement dans l'organisme, la matière vivante, la chaleur, le mouvement, la force en travail et en réserve. Tout cela est alimentaire. Nous avons pris la mauvaise habitude d'y voir des effets différents, sous prétexte que nous les mesurons par des moyens différents. Mais l'expérience nous a toujours répondu en nous remettant dans le droit chemin. Nous avons cru pendant longtemps que la définition de l'aliment pouvait être donnée par la chimie, et que, par exemple, la gélatine était alimentaire parce qu'elle contient du carbone, de l'oxygène, de l'hydrogène et de l'azote comme le muscle, et dans des proportions à peu près les mêmes. Il a fallu en rabattre. La chimie se borne pour le

moment à établir le bilan de l'opération. Sachant le poids de l'aliment et sa composition élémentaire, elle cherche seulement comment se sont partagés, après l'opération faite, son carbone, son hydrogène, son oxygène et son azote, ce qu'on peut en retrouver dans les fèces, l'urine, la sueur, et ce qui semble avoir disparu sous forme de produits de la respiration et de la transpiration cutanée.

Ce classement de quantité est à peine un classement de qualité. Le meilleur aliment est évidemment celui dont le passage se traduira par une respiration et une combustion intimes plus actives. Dans le détail, on est moins assuré, et il reste beaucoup de doutes. On n'a par exemple, aucun droit de ne voir dans le canal intestinal que des matières inassimilables, qu'aucun animal n'aurait pu digérer. Le même animal, le lendemain, aurait pu suffire à la besogne, car rien n'est contingent, surtout en présence des microbes, comme un acte digestif. Mais, si peu probants qu'ils soient, ces nombres sont nécessaires à connaître, et c'est à les recueillir que sont destinés ces appareils complexes dont les plus connus sont ceux de Regnault et Reiset, de Voit et Pettenkofer, de Nowak et Segen, etc., et dans lesquels on aspire dans des masques ou des chambres de respiration les produits gazeux fournis par l'aliment sous l'influence de la vie.

Toutes ces peines prises, nous connaissons les matières premières entrées dans l'usine, et ce qui en sort par les égouts ou la cheminée. Ce qui serait plus important, c'est de savoir ce qui se passe dans l'usine. Elle est en activité : partout il y a des mouvements, des frottements. Il serait curieux de savoir ce qui se dépense de l'aliment dans cette transformation en *actes de volonté consciente ou inconsciente*. Il faut de la chaleur pour toutes ces petites machines fonctionnant dans la grande. Il en faut en outre pour chauffer la grande, pour maintenir partout la température des tissus, au niveau requis pour leur fonctionnement régulier.

Ce sont les aliments qui sont chargés de cette dépense. Ils sont des sources de force, et on peut mesurer ce qu'ils en contiennent en les brûlant dans une bombe calorimétrique. On peut même, sur ce total connu à l'avance, faire le même décompte que sur les éléments chimiques, mesurer ce qui est allé à la chaleur animale, et à la force dépensée en travail. Au fond, ce n'est pas un phénomène nouveau qui s'ajoute ainsi au phénomène chimique ; c'est une forme nouvelle du phénomène général, et nous pourrions, si nous voulions, calculer la chaleur disponible en partant de la connaissance complète des aliments. Mais on a préféré d'ordinaire en faire quelque chose à part, qu'on évalue en calories, et le physicien qui la mesure est, d'ordinaire aussi, tout autre que celui qui fait les études de chimie dont nous avons parlé plus haut.

Cela posé, l'original et le nouveau des expériences américaines,

c'est que tout s'y mesure à la fois, que l'aliment est étudié au point de vue chimique et au point de vue calorimétrique. Il y a autre chose de curieux : l'être soumis à l'expérience est un savant qui y prend part. Au lieu de la surveillance, continue et inquiète, qu'exigerait un animal inerte, l'opérateur se surveille lui-même en même temps que les aides répandus autour de lui, car, naturellement, un homme dans ces conditions est en cage, mais dans une cage dont le modèle est tout à fait inédit.

Le problème que la Commission a résolu est en effet celui-ci : un homme en bonne santé, adulte, en équilibre, c'est-à-dire tel que son poids n'augmente et ne diminue pas, est, à un moment donné, introduit dans un espace limité qu'on peut comparer au réservoir d'un thermomètre, c'est-à-dire que toute variation thermométrique y devient sensible et mesurable. Il emporte avec lui, dans son asile, la dose d'aliments nécessaire à sa vie de plusieurs jours, car, comme il y a toujours un moment de perturbation au moment de la transition, il est meilleur que cette perturbation porte sur une expérience plus longue. Comme la chambre est close, un courant d'air la ventile constamment, apportant l'oxygène utile, enlevant les produits usés, analysé, cela va sans dire, à l'entrée et à la sortie, tant en quantité qu'en qualité. L'opérateur prend lui-même l'état de son poulx, de sa température, inscrit les états hygrométriques, exécute les divers articles de son programme nutritif affiché sur la chambre, extérieurement et intérieurement, et reste en communication téléphonique constante avec ses aides¹. Sa chambre est d'ailleurs assez confortablement meublée : un lit, une table, une chaise pliante. S'il veut essayer, ce qui vient si naturellement à l'esprit, de voir l'effet du travail intérieur sur la nutrition, il y a un motocycle, dans lequel la force qu'il verse prend, au moyen d'une dynamo, la forme d'un courant électrique, ce cou-

1. Voici un de ces programmes. C'est celui d'un régime à l'alcool, avec travail, celui de la seconde expérience du groupe D, qu'on trouvera plus loin.

7 h. matin. Lever, uriner, collecter les condensateurs, peser les absorbants, se peser soi-même nu et habillé.

7 h. 45. Déjeuner, boire 200 gr. d'eau.

8 h. 20. Commencer le travail.

10 h. 20. Repos de 40 m., boire de l'alcool, boire aussi 200 gr. d'eau.

10 h. 30. Recommencer le travail.

12 h. 30. Arrêter. Boire 200 gr. d'eau.
1 h. Uriner, collecter les condensations, peser les absorbants.

1 h. 15. Dîner.

1 h. 50. Commencer le travail.

3 h. 50. Arrêter, repos de 40 m., boire l'alcool, boire aussi 200 gr. d'eau.

4 h. Commencer le travail.

6 h. Arrêter le travail.

6 h. 30. Souper, changer les vêtements de dessous, se peser nu et habillé.

7 h. Uriner, récolter les condensations, peser les absorbants.

10 h. Couvrir d'une couverture les provisions de bouche, boire 200 gr. d'eau, coucher.

1 h. Uriner.

Les mesures relatives au poulx, à la température, à l'état hygrométrique se faisaient *ad libitum*.

rant va se dépenser dans une lampe Edison, enfermée comme tout le reste dans la chambre, où sa chaleur va retrouver la chaleur versée par les autres formes de transformation de l'aliment. De la sorte, venues ensemble par l'aliment, toutes ces formes repartent sous la même forme, celle de chaleur, et sont récoltées par le même appareil.

Cet appareil est fait d'une série de tubes étroits en cuivre circulant dans la chambre, et récoltant dans l'air tout ce qui s'y trouve de chaleur excédant la sienne. Toute la chaleur produite vient donc se totaliser dans l'eau écoulée. Il suffit de la faire passer par un compteur et sur un thermomètre. Je n'entre pas dans plus de détails relatifs à l'évacuation des produits de la digestion. L'opérateur peut, lorsqu'il le veut, recueillir à part, à l'aide de tubes à eau froide, les produits de la respiration, ou dans des linges la sueur quand il a travaillé, peser par différence les produits obtenus et les étudier à part. Bref, il y a un opérateur de plus, et intelligent, dans la petite cage.

Ceux qu'intéresserait cet instrument, qui me semble devoir rester dans la physiologie, en trouveront la description et le fonctionnement dans les premières publications de M. Atwater signalées dans la Bibliographie. Malgré la simplicité de sa construction et de sa marche, il suffit à tant de choses qu'on peut être tenté de se demander s'il fait bien tout ce qu'il fait. Les deux expériences suivantes répondront à ce scrupule.

Il est à la fois un calorimètre et chambre de respiration. Nous pouvons l'étudier comme calorimètre en y envoyant de l'extérieur un courant d'électricité, qui s'y dépense par l'intermédiaire du motorcycle, de la dynamo et de la lampe électrique, qui tous sont enfermés dans la chambre, et donnent de la chaleur que le courant d'eau emporte. Cinq expériences, faites par ce moyen, ont montré qu'en moyenne, le récepteur retrouvait 100,01 de la chaleur apportée par le courant électrique. On voit donc que l'appareil est bien protégé contre l'influence du rayonnement, ce à quoi aide naturellement beaucoup la constance de sa température.

Pour faire de même fonctionner l'appareil comme chambre de respiration artificielle, on y a brûlé un certain poids d'alcool bien pur, qui donnait à la fois de la chaleur, de l'eau et de l'acide carbonique.

Le tableau suivant indique ce que devait donner l'alcool qu'on a brûlé, et ce qu'on a trouvé en réalité :

	CO ²	H ² O	Calories.
Valeur théorique.....	49,240	12,264	64,551
Valeur trouvée.....	49,207	12,378	64,510
Proportion.....	99,8	100,9	99,9

L'appareil récolte donc très bien à la fois les matériaux chimiques et la chaleur. Il se révèle donc comme un instrument de premier ordre, auquel sont promis des résultats du plus grand intérêt.



Maintenant que nous avons une méthode de travail et de bons instruments, revenons à notre question : quelle est la valeur alimentaire de l'alcool ? Nous trouvons de suite une difficulté à résoudre, dont la solution va nous faire faire un pas considérable. Ce que nous voyons bien jusqu'ici, c'est que nous pouvons, après avoir introduit dans notre appareil un homme dans les conditions voulues, c'est-à-dire dans lequel *rien ne reste*, savoir ce que donne chez lui son régime d'entretien : respiration, excréments, chaleur animale ou transformée en travail. Mais son aliment, qui le tient en bonne santé, doit être physiologique. Une boisson purement alcoolique ne peut pas être un aliment complet, et se substituer, même pendant une demi-journée, à un aliment tel que du pain ou de la viande, qui, outre le carbone l'hydrogène et l'oxygène, contiennent de l'azote. En le jugeant par la valeur alimentaire qu'il possède lorsqu'il est seul, on lui ferait tort, et on sortirait en outre du domaine de l'hygiène. En réfléchissant d'ailleurs un moment, nous voyons que nos meilleurs aliments ressemblent en cela à l'alcool. Tous deviennent dangereux au delà d'une certaine dose. On ne fait vraiment de la physiologie que si la nourriture est variée, si on vit de régime.

Mais l'opérateur peut toujours à l'avance, par un tâtonnement en général assez court, se faire deux menus, assez complexes pour satisfaire ses goûts, et qui diffèrent seulement en ceci que dans le second, l'un des aliments est remplacé par l'aliment qu'on veut étudier. Avec ce que nous savons sur les aliments, ce qu'il y a de mieux consiste, au moins pour commencer, à faire ce remplacement entre deux aliments très voisins, et à poids isodynamiques. Dans les expériences sur l'alcool, ce sont les aliments sucrés ou farineux qu'on a remplacés par de l'alcool. De plus l'alcool donnant à poids égal plus de chaleur que l'amidon ou la matière grasse, on en mettait moins. Ainsi, dans un cas, je vois qu'on a remplacé par 79,5 grammes d'alcool, ayant en tout 312 calories pour chaleur de combustion, 37 grammes de corps gras et 45 grammes d'hydrates de carbone représentant 520 calories. Une fois maître de ces deux régimes, assuré qu'ils peuvent se substituer l'un à l'autre sans trouble pour l'hygiène, on peut revenir à la marche signalée tout à l'heure, on peut commencer une expérience. Il n'est pas douteux que les résultats de la comparaison seront attribuables à l'alcool. Trois opérateurs, un Suédois, un Américain, un Canadien, tous assistants du Laboratoire, ont fait les 26 expériences que nous allons résumer. Chose à signaler, deux d'entre eux étaient des abstinents de l'alcool, et en ont bu sans difficulté dans ces essais. La dose en était faible et équivalait tout au plus à un litre de vin léger par jour :

elle n'a produit aucun effet particulier bien sensible; nous sommes toujours dans des conditions physiologiques.

Voici une partie du tableau récapitulatif des expériences, avec leurs dates. On les a divisées en groupes qui sont très comparables. Dans chacun de ces groupes, le régime était le même, et les deux parties ont été souvent le calque l'une de l'autre, car l'expérience avec l'alcool faisait sandwich avec elles, sans que l'opérateur quittât la chambre.

GROUPES	DATES	DURÉE	NATURE de l'expérience.		Albuminoïde de l'aliment.	Énergie de l'aliment.	
			Repos.	Régime.		Gr.	Cal.
A	Janvier 10-14 1898.	4 jours.	Repos.	Ordinaire.	119	2,717	
	Février 15-19 1898.	4 —	—	Alcool.	123	2,409	
B	Mars 19-22 1899.	3 —	—	Ordinaire.	124	3,061	
	— 13-16 1899.	3 —	—	Alcool.	124	3,044	
C	Février 14-17 1900.	3 —	—	Ordinaire.	100	2,490	
	— 17-20 1900.	3 —	—	Alcool.	99	2,491	
	— 20-23 1900.	3 —	—	Ordinaire.	99	2,489	
D	Mars 22-26 1898.	4 —	Travail.	Ordinaire.	124	3,862	
	Avril 12-16 1898.	4 —	—	Alcool.	121	3,891	
E	Mars 16-19 1900.	3 —	—	Ordinaire.	100	3,487	
	— 19-22 1900.	3 —	—	Alcool.	99	3,458	
	— 23-25 1900.	3 —	—	Ordinaire.	100	3,495	
F	Avril 20-23 1900.	3 —	—	Ordinaire.	101	3,487	
	— 23-26 1900.	3 —	—	Alcool.	100	3,486	
	— 26-29 1900.	3 —	—	Ordinaire.	100	3,493	

L'alcool a été étudié, comme on voit, pendant l'état de repos, c'est-à-dire de vie aussi inerte que possible du sujet, et cette même vie dans laquelle entraient huit heures par jour de travail au vélocipède. Bien entendu, il fallait ici un entraînement spécial : le régime était plus généreux. La dose d'alcool n'était pas changée, cependant. Seulement, l'alcool qui, dans les cas de repos, représentait $\frac{1}{5}$ de la dose d'aliments, en représentait $\frac{1}{6}$ ou $\frac{1}{7}$.

Enfin, il faut savoir aussi que les chiffres de la dernière colonne sont les nombres de calories fournis par les matériaux du régime journalier dont la pratique avait révélé l'équivalence. C'est celle qu'il faut surtout envisager. Elle nous dit ceci : *Dans le régime alimentaire de trois hommes valides, on a pu, sans inconvénient, remplacer du beurre, des légumes ou autres aliments analogues par de l'alcool sous forme de vin ou d'eau-de-vie. Ces remplacements et ces alternances ne dépendent pas de l'état de repos ou de travail, ni d'aucune circonstance relative au consommateur. Tout est commandé par le coefficient isodynamique de l'aliment, qui reste physiologiquement le même, si la substitution se fait en tenant compte de ces coefficients, et quand on supprime le vin dans un repas, il faut le remplacer par quelque chose.* Voilà ce que nous dit le tableau. En réalité, et contrairement aux apparences, l'expérience se faisait en dehors de l'appareil, elle con-

sistait à trouver par tâtonnement un régime dans lequel on pouvait changer sans inconvénient un élément par de l'alcool. C'est un point sur lequel les auteurs du mémoire, perdus dans le dédale des faits expérimentaux, n'insistent peut être pas assez. L'instrument n'est intervenu avec sa perfection qu'au moment où il a fallu mesurer, et où on vit ressortir l'équivalence.

Voilà donc le changement de point de vue que je signalais en commençant; je ne dis pas le changement de doctrine, il n'y avait pas de doctrine. La science n'avait pas étudié cette question, elle s'y heurtait de divers côtés, et quand on réfléchissait au sujet de cet obstacle rencontré dans son chemin, on se disait que c'était vraiment fâcheux de le trouver toujours là, car la science se faisait autour de lui, et il commençait à gêner de belles perspectives. L'obstacle est tombé, et on a vu qu'il ne cachait rien d'imprévu. L'alcool était à sa place comme aliment, ainsi qu'on pouvait le deviner par ce qu'on savait de lui en microbiologie.

Mais cela, il fallait le dire, et c'est le mérite de M. Atwater et de ses collaborateurs de l'avoir dit. Ils nous ont montré que l'alcool ne changeait pas les qualités physiologiquement alibiles d'une ration normale, celle qui maintient les forces pendant l'état de santé. Il est donc un aliment au même titre que les aliments variés qu'il remplace. De plus, la substitution utile doit se faire non pas poids pour poids, mais par parties dégageant, quand on les brûle, la même quantité de chaleur, et contenant la même quantité d'énergie. Sous ce point de vue, l'alcool est aux premiers rangs de la liste.

Nous devons donc lui faire nos excuses pour la façon dont nous l'avons traité jusqu'ici. — L'ivresse qu'il donne? Je sais bien, c'est le côté fâcheux. Un aliment placé à un aussi bon rang, et qui arrive si facilement dans les tissus, a les inconvénients de ses avantages. Usez : n'abusez pas. Surtout, ne raisonnez pas à la façon d'un *skopzoï*. Quant aux conséquences fiscales qui résultent pour l'alcool de sa mauvaise réputation, elles sont aussi à changer depuis que l'alcool est devenu quelqu'un. Mais nous sommes là sur un terrain qui n'est plus celui de ce journal. Et puis, il faut laisser les esprits s'habituer à la lumière et à la vérité.

E. DUCLAUX.